Beiträge zur Kenntnis von der Durchbohrung pflanzlicher Membranen durch Pilzhyphen.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde der hohen philosophischen Fakultät der Universität Leipzig vorgelegt

von

Otto Dorn
aus Werdau i. S.

ACAD. LUGD. BAT. BIBL.

Meißen.
Druck von C. E. Klinkicht & Sohn.

1914

Angenommen von der III. Sektion auf Grund der Gutachten der Herren **Pfeffer** und **Chun.**

Leipzig, den 5. Februar 1914.

Der Procancellar.
Kirchner.

Inhaltsverzeichnis.

Seite

I. Einleitung 5

II. Methodik 6

III. Versuche mit Membranen 9

1. Versuche mit pflanzlichen Membranen 10

2. Versuche mit tierischen Membranen 16

3. Versuche mit künstlichen Membranen 19

IV. Bedeutung der chemotropischen Reizung für die Durchbohrung 21

V. Haptotropisches Verhalten der Pilzhyphen 30

VI. Mechanische Effekte 33

VII. Beeinflussung der Enzymwirkung durch verschiedene Faktoren 39

1. Einfluß subminimaler Temperaturen 40

2. Einfluß von Säuren und Alkalien 42

3. Einfluß von Tannin 43

4. Einfluß von Pepton 45

VIII. Schluß 47

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547019_0033

I. Einleitung.

Da die Pilze unfähig sind, die zur Erhaltung ihrer vitalen Funktionen nötige organische Substanz selbst zu produzieren, so sind sie auf organische Nährstoffe angewiesen, die, je nachdem es sich um Parasiten oder Saprophyten handelt, einem lebenden resp. toten Organismus angehören. Während saprophytisch vegetierende Pilze im allgemeinen auf mancherlei Substraten zur Entwicklung gelangen können, vorausgesetzt, daß nur einigermaßen genügende Mengen der unerläßlichen organischen Substanzen vorhanden sind und daß gegebenen Falles der Pilz diese Stoffe durch eine enzymatische Beeinflussung verwertbar machen kann, muß sich ein parasitärer Pilz erst durch aktiven Angriff auf die lebende Wirtspflanze die Nahrungsquelle erschließen. Vor allem kommt den Keimschläuchen die spezielle Aufgabe zu, das Eindringen in die Nährpflanzen zu vermitteln. Demgemäß bleiben z. B. für einen auf der Blattfläche austreibenden Keimschlauch zwei Wege offen, auf denen er zum Innern des Wirtsorganismus vordringen kann: entweder benutzt die Hyphe die Spaltöffnungen der Epidermis, oder sie bohrt sich unter Mitwirkung gewisser Faktoren aktiv durch die Oberhaut ein, um in dem darunter liegenden Gewebe den Ort für das sich entwickelnde Myzel zu finden.

Wie *Pfeffer*[1]) hervorhebt, handelt es sich bei der Einbohrung der Hyphen in Membranen um eine verwickelte Resultante verschiedener Faktoren, zu deren Analyse und Präzisierung verschiedene Beobachtungen vorliegen. Vor allem hat *Miyoshi*[2]) darauf hingewiesen, daß chemotropische Reize für das Durchbohren fester Membranen durch Pilz-

1) Pfeffer, Pflanzenphysiologie 2. Aufl. Bd. I, 1897. S. 361.
2) Miyoshi, Über Chemotropismus der Pilze. Bot. Ztg. 1894. Bd. 52. S. 24. Miyoshi, Die Durchbohrung von Membranen durch Pilzfäden. Jahrb. f. wiss. Bot. 1895. Bd. 28. S. 270.

hyphen von wesentlicher Bedeutung sind und daß dieselben Reizvorgänge bei der Infektion pflanzlicher Gewebe durch parasitäre Pilze eine Rolle spielen mögen. Infolge der chemotropischen Sensibilität wird aber den Hyphen nur die Richtung nach der Epidermis induziert[3]), während die eigentliche Membrandurchbohrung erst durch die Wirkung von sezernierten, die widerstehende Membran angreifenden Enzymen und durch die Äußerung nicht zu unterschätzender mechanischer Effekte realisiert wird, wobei natürlich Dicke und Qualität der Häute eine wesentliche Rolle spielen.[4])

Mit Rücksicht auf die in der neuern Literatur[5]) aufgetauchten Zweifel an der als weit verbreitet angenommenen chemotropischen Reaktionsfähigkeit der Pilze erschien eine Nachprüfung angebracht, inwieweit chemotropische Reize allein für die Membrandurchbohrung ausschlaggebend sind. Diesem Zwecke soll die vorliegende Untersuchung dienen, die sich zugleich mit der Widerstandsfähigkeit pflanzlicher Membranen befaßt und einige Rücksicht auf mechanische Effekte und enzymatische Leistungen nimmt.

II. Methodik.

Die Versuche wurden in der Mehrzahl nach der von *Miyoshi*[6]) angegebenen Methode ausgeführt, d. h. die Pilzsporen wurden auf die zu untersuchenden Membranen ausgesät, die einem nährstoffhaltigen Medium (meist 5 % Gelatine mit 2 % Rohrzucker) superponiert waren. Sollte der Einfluß verschiedener Agentien auf das Verhalten der Pilzhyphen verfolgt werden, so wurden diese chemischen Stoffe der Gelatineunterlage zugesetzt. Es empfahl sich, um ein möglichst rasches und kräftiges Auskeimen der Sporen zu veranlassen, die Sporen nicht direkt auf die Membran zu bringen, sondern sie in einer dünnen und im Vergleich mit

3) Pfeffer, 1897. l. c. S. 360.
4) Pfeffer, 1897. l. c. S. 361.
5) Clark, On the toxic properties of some copper compounds with special reference to Bordeaux mixture. Bot. Gazette 1902. Bd. 23. S. 47.
Fulton. Chemotropism of fungi. Bot. Gaz. 1906. Bd. 41. S. 106.
6) Miyoshi. 1894. l. c. S. 3 u. 4.
Miyoshi. 1895. l. c. S. 271.

der als Unterlage dienenden Gelatine nährstoffärmeren Gelatineschicht auszustreuen, sodaß immer noch die von *Miyoshi*[7]) als absolut notwendig hingestellte Bedingung für das Zustandekommen einer Durchbohrung, nämlich die durch ein Konzentrationsgefälle ausgelöste chemotropische Reizung, realisiert war. Denselben Effekt einer Keimungsbeschleunigung erreichte ein Bestreichen der Membran mit einer schwachprozentigen (etwa 0,5 %) Zuckerlösung. Schließlich genügte schon, um den Keimprozeß einzuleiten, ein mehrmaliges Benetzen der Membran mit destilliertem, sterilen Wasser, was den wiederholten Tauniederschlägen, wie sie *Nordhausen*[8]) bei seinen Versuchen anwendete, um einem Absterben der für Austrocknen besonders empfindlichen ersten Keimungsstadien zu begegnen, entsprechen dürfte. Nach diesem Autor ist ja die vorhergehende saprophytische Ernährung, die nach *de Bary*[9]) für das Eintreten einer Infektion unerläßlich ist, nicht unbedingt notwendig.

Handelte es sich jedoch darum, die Wirkung der Hyphen auf eine in einem homogenen Medium befindliche Membran zu prüfen, so geschah die Untersuchung in einem Hängetropfen. Als Flüssigkeit wurden Lösungen verschiedener Qualität und Quantität benutzt, wie noch des nähern im speziellen Teil dieser Arbeit darzulegen sein wird.[10]) Um eine Verdunstung und die damit verbundene Konzentrationserhöhung zu eliminieren, erfolgte die Aufbewahrung des Hängetropfens in einer feuchten Kammer, die durch ein allseitig mit Wasser durchtränktes Papprähmchen dargestellt wurde. Oder es wurden für diese Versuche Hängetropfenkulturen verwendet, deren Herstellung so erfolgte, daß abgeschliffene Glasringe von ca. 1,5 cm lichter Weite auf einem Objektträger mit Siegellack festgekittet wurden. Es wurde dann die für den jeweiligen Versuch in Betracht kommende Flüssigkeit bis zu ungefähr ¼ Höhe in die Glasringe eingefüllt und schließlich das Deckglas mit dem Hängetropfen möglichst dicht aufgesetzt. Die nach diesen zwei Methoden hergestellten feuchten Kammern kamen in einem dampfgesättigten Raum bei einer ungefähr dem optimalen Wachs-

7) Miyoshi. 1895. l. c. S. 270.

8) Nordhausen. Beiträge zur Biologie parasitärer Pilze. Jahrb. f. wiss. Bot. 1899. Bd. 33. S. 13.

9) de Bary. Über einige Sklerotinien und Sklerotienkrankheiten. Bot. Zeitg. 1886. Bd. 44. S. 396.

10) Vgl. S. 26, 27 der vorliegenden Arbeit.

tum der Versuchspilze entsprechenden Temperatur[11]) zur Aufstellung.

Insofern nicht die Qualität der Membranen, wie im dritten Abschnitt[12]), den Gegenstand des Studiums bildete, wurde hauptsächlich zu den Versuchen die fast ganz spaltöffnungsfreie Oberhaut der Zwiebelschale von Allium cepa benutzt, die relativ leicht von den Pilzen durchbohrt wird.

Die Pilze, mit denen in den Versuchen meistenteils experimentiert wurde, waren: Botrytis vulgaris[13]), Penicillium glaucum, Aspergillus niger. Es sei erwähnt, daß sich vor allem Botrytis besonders gut zu den Experimenten eignete, weil sie die Fähigkeit besitzt, sowohl saprophytisch, als auch parasitisch zu vegetieren; es ist ja für sie hinreichend bekannt, daß sie mit größter Leichtigkeit lebende Pflanzenorgane infizieren kann. Als Versuchspilz war Botrytis auch deshalb empfehlenswert, weil die Keimung immer leicht erfolgte und weil sich aus dem Zustand der bei normaler Ernährung kräftig ausgebildeten Hyphen mancher Rückschluß auf das Gedeihen des Pilzes unter den obwaltenden Bedingungen ziehen ließ.

Für die Reinkultur der verwendeten Schimmelpilze dienten sorgfältig sterilisierte Kartoffelscheibchen, auf denen sich das Myzel üppig entwickelte und bald zur Konidienfruktifikation überging. Flüssige Nährsubstrate wurden nie benutzt, weil hier infolge des submersen Wachstums der Hyphen die Konidienbildung relativ spät einsetzt.[14])

Schließlich sei noch hervorgehoben, daß versucht wurde, auch andere Pilze, besonders die holzzerstörenden Hymeno-

---

11) Pfeffer. Pflanzenphysiologie. Bd. II. 1904. S. 87.

12) Vgl. S. 9 ff. der vorliegenden Arbeit.

13) Zur systematischen Stellung der benutzten Botrytis: Nach Schellenberg (Untersuchungen über das Verhalten einiger Pilze gegen Hemizellulosen. Flora 1908. Bd. 98. S. 274) ist die von Miyoshi als Botrytis cinerea in seinen Versuchen benutzte Spezies mit Botrytis vulgaris identisch. Trotzdem die Konidien und Konidienträger beider Pilze sehr ähnlich sind, wie überhaupt in morphologischer Hinsicht wohl kaum Differenzen bestehen, so hält doch Schellenberg die Botrytis vulgaris verschieden von der Botrytis cinerea, die speziell auf Traubenbeeren vorkommt und hier die sog. Edelfäule hervorbringt. In dieser Auffassung wurde Schellenberg durch wesentliche physiologische Unterschiede bestärkt, die sich aus einem heterogenen Verhalten verschiedenen Hemizellulosen gegenüber ergeben. Da die in der vorliegenden Untersuchung benutzte Botrytis in ihren physiologischen Eigenschaften mit der Schellenberg'schen Botrytis vulgaris übereinstimmt, so sei für sie diese Bezeichnung gewählt.

14) Pfeffer. Pflanzenphysiologie II. 1904. S. 140.

myceten, wie Merulius lacrymans u. a., in den Kreis der Betrachtung zu ziehen, aber mit negativem Erfolge. Zwar gelingt es nach *v. Tubeuf*, *Cool* u. a.,[15]) die Merulius-Sporen zur Keimung zu bringen, aber, sobald es wegen des nur kurze Zeit wirksamen Konzentrationsgefälles auf den Zeitpunkt wie in vorliegender Arbeit ankommt, machen die Unregelmäßigkeiten bei der Keimung, so die ungleich lange Keimungsdauer gleichaltriger Sporen, ebenso wie die auffallend geringe Keimungsintensität, ein erfolgreiches Experimentieren illusorisch.

III. Versuche mit Membranen.

In der mykologischen Literatur finden wir genügend Hinweise auf die Membrandurchbohrung durch Pilzhyphen; aber die erste planmäßige Untersuchung, inwieweit Pilzhyphen imstande sind, Membranen heterogener Art mit Hilfe chemischer und mechanischer Wirkungen zu durchbohren, verdanken wir *Miyoshi*[16]). So hat dieser Autor konstatieren können, daß künstliche Zellulosemembranen, Kollodiumhäutchen, ferner die Epidermis der Zwiebelschale von Allium cepa von den Pilzfäden durchbrochen werden, daß an lebenden Blättern von Tradescantia unter Durchbohrung der äußern Zellmembran Infektionserscheinungen hervorgerufen werden können, daß schließlich die Pilzhyphen sowohl in Holundermark, als auch in Kork[17]) und Holz einzudringen vermögen. Auch Kalklamellen in Gestalt von Eierschalen, Knochenstücken, Marmorblättchen werden nach *Lind*[18]) erfolgreich von Pilzen perforiert; die Hyphen dringen in das

15) v. Tubeuf. Holzzerstörende Pilze u. Haltbarmachung des Holzes, in Lafar, technische Mykologie. II. Aufl. Bd. 3. S. 308.
Cool. Beiträge zur Kenntnis der Sporenkeimung u. Reinkultur der höheren Pilze. Bot. Zentralblatt 1912. Bd. 120. S. 328.

16) Miyoshi. 1895 l. c. S. 273—278.

17) Ein interessantes Beispiel aus der Praxis möge dafür angeführt werden (vgl. Lafar, technische Mykologie. Bd. 4. S. 274). Es ist oft beobachtet worden, daß Pilzhyphen durch die Korkstopfen gefüllter und liegend aufbewahrter Weinflaschen hindurchwachsen können, wo sie durch Produktion „muffig" riechender Stoffwechselprodukte zum Entstehen des sog. Stopfengeschmackes der Flaschenweine beitragen.

18) Lind. Über das Eindringen von Pilzen in Kalkgestein u. Knochen. Jahrb. f. wiss. Bot. 1898. Bd. 32. S. 603.

kompakte Kalkgestein und in die Knochensubstanz ein, indem die mechanische Leistung der Fäden durch die chemische Wirkung einer vom Pilz sezernierten Säure (hauptsächlich Oxalsäure) unterstützt wird. Bereits lange vor *Lind* hatte *Mosler*[19]) auf die interessante Tatsache aufmerksam gemacht, daß man unverletzte Eier von außen her mit Penicillium glaucum und Mucor mucedo infizieren kann, d. h. daß die auf der Außenseite der Eischale auskeimenden Konidien wohl imstande sind, die Eischale zu durchdringen.

1. Versuche mit pflanzlichen Membranen.

Es war für die vorliegende Untersuchung wichtig, experimentell festzustellen, inwieweit eine kutikularisierte Epidermis die Immunisierung garantiert, d. h. inwieweit die Kutikula einer Infektion erfolgreich widerstehen kann. Es ist bekannt, daß Botrytis wohl junge Epidermen durchbohren kann, aber nicht imstande ist, in die älteren Epidermispartien derselben Pflanze einzudringen, eine Erscheinung, die ihre Erklärung in der stärkeren Kutikularisierung der Außenwände der älteren Epidermis findet.[20])

Um die oben angedeutete Frage zu entscheiden, wurden von den Blättern verschiedener Pflanzenspezies möglichst dünne Epidermislamellen abgeschnitten, um auch bei stärkerer Vergrößerung ein hinreichend lichtstarkes Bild zu erhalten. Durch besonders stark entwickelte Kutikula zeichnen sich bekanntlich Pflanzen xerophilen Charakters aus, wo diese Einrichtung als wesentlicher Schutz gegen zu intensive Wasserabgabe zu fungieren hat. Für die Versuche kamen in Betracht Blätter von Ilex, Agave, Cycas, Rhododendron, Camelie. Außerdem wurden Lamellen von der Apfelschale und von Tradescantia-Blättern (vor allem Tr. discolor) benutzt. Diese letzteren eigneten sich deshalb gut zu den Versuchen, weil in den direkt unter der Epidermis liegenden und als Wasserreservoir funktionierenden Zellschichten die Chlorophyllbildung ausbleibt.

Das Resultat in dieser Richtung angestellter Versuche läßt sich dahin zusammenfassen, daß bei Pflanzen mit rela-

19) Mosler. Virchows Archiv. 1864. Bd. 29. S. 510. (Zitiert nach Lafar, tech. Myk. Bd. 4. S. 274.)
20) Schellenberg. 1908. l. c. S. 281.

tiv schwach entwickelter Kutikula stets eine Durchbohrung eintritt, so bei den Blättern von verschiedenen Tradescantia-Arten. Je mächtiger dagegen die Kutikula zur Ausbildung gelangt, um so geringer ist der Durchbohrungseffekt, sodaß eine Infektionsmöglichkeit von der Stärke der Kutikula abhängig ist.

So ist es auch zu verstehen, daß junge Blätter viel rascher und leichter perforiert werden als ausgewachsene Vegetationsorgane derselben Spezies. Vor allem sind es die zartwandigen und empfindlichen Blütenblätter, die einer Infektion rasch und sicher zum Opfer fallen und von denen dann die infektiöse Erkrankung leicht auf Teile übergreift, bei denen eine direkte Konidieninfektion ausgeschlossen erscheint.[21]) Auch *Behrens*[22]) macht ähnliche Angaben, nach denen das Eindringen der Botrytis in die Blätter von Pinus dadurch begünstigt wird, daß die von den Schuppen des Kurztriebes verdeckte Nadelbasis lange in einem wachstumsfähigen Zustand verharrt und dadurch dem Pilze wenig Widerstand leistet. Ebenso hält derselbe Autor[23]) die äußeren Ursachen, die bedingen, daß eine Frucht mehr oder weniger zum Faulen neigt, für wesentlich mechanisch, die namentlich im Bau der Fruchthaut begründet sind; denn durch eine intakte Epidermis vermögen die Fäulnispilze schwerlich in das Innere der Frucht einzudringen, wie auch schon *Zschokke*[24]) hervorgehoben hat, der allerdings in bezug auf die Prädisposition des Kernobstes zur Pilzfäulnis mehr Gewicht auf die chemische Zusammensetzung des Zellsaftes legt. Durch eigene Versuche konnte der Nachweis erbracht werden, daß sämtliche Versuchspilze nie imstande waren, eine intakte Apfelschale zu durchbohren.

Daß auch andere Pezizineen von diesem eben skizzierten Verhalten keine Ausnahme machen, beweist eine Angabe *Woronins*[25]), nach der die Keimschläuche der Ascussporen

---

21) Vgl. Kißling. Zur Biologie der Botrytis cinerea. Hedwigia 1889. S. 232.

22) Behrens. Phytopathologische Notizen I. Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten. 1895. Bd. 5. S. 139.

23) Behrens. Beiträge zur Kenntnis der Obstfäulnis. Zentralblatt f. Bakteriologie. II. Abt. 1898. Bd. 4. S. 639.

24) Zschokke. Über den Bau der Haut u. die Ursachen der verschiedenen Haltbarkeit unserer Kernobstfrüchte. Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1897. Bd. 11. S. 153.

25) Woronin. Über die Sklerotienkrankheiten der Vacciniaceen. Mémoires de l'Acad. de St. Pétersbourg. 1888. VII. 36. S. 606.

von Sklerotinia vaccini nie durch alte, vorjährige Blätter eindringen, sondern stets nur durch die allerjüngsten, noch nicht entfalteten Blätter und Stengel, zu einer Zeit also, wo diese Teile noch eine sehr dünnwandige, kaum kutikularisierte Epidermis besitzen.

Ein eigener Versuch illustriert diese mit dem Alter des Pflanzenorgans zunehmende Widerstandsfähigkeit gegen Infektionsangriffe. Während bei eben entfalteten Blättern von Tradescantia discolor die Durchbohrung schon im Verlauf von 12 Stunden eingetreten war, konnte sie in dieser Zeit bei älteren Blättern desselben Pflanzenindividuums noch nicht konstatiert werden; sie erfolgte später und außerdem auch nicht so leicht.

Stärkere Kutikularschichten wurden überhaupt nicht durchbohrt (z. B. bei Ilex, Camelie etc.). Das Myzel breitete sich längs der Oberfläche aus, schritt gelegentlich zur Appressorienbildung, ohne jedoch über dieses Stadium hinauszugelangen. Auch eine vorausgehende, intensivere saprophytische Ernährung konnte die Hyphen nicht in dem Maße kräftigen, daß sie nunmehr imstande gewesen wären, die Kutikula zu durchbrechen. Auch *de Bary*[26]) sah nie die Peziza in die intakte Schale von Kartoffeln eindringen, wenn er den Pilz unter „Infektionsbedingungen" brachte, d. h. wenn er für eine saprophytische Aufzucht sorgte. Desgleichen hat *Kißling*[27]) schon gezeigt, daß die Konidien von Botrytis, auch wenn sie in Nährlösung keimten, die Fruchthäute verschiedener Prunaceen nicht zu durchbrechen vermögen. Für obligat parasitierende Pilze (Phyllostica) hat allerdings *Schmidt*[28]) nachgewiesen, daß bei schwacher saprophytischer Vorernährung die Infektion schneller vor sich geht, wenn auch ohne vorausgegangene Zufuhr von Nahrung die Membrandurchbohrung nicht gehemmt, sondern nur verzögert wird. Aber in diesem Falle stellt die zu durchbohrende Blattoberfläche (Pirus communis) nicht zu hohe Ansprüche an die Leistungsfähigkeit der Hyphen; anderseits mögen gerade parasitäre Pilze durch eine viel kräftigere Sekretion spezifisch wirkender Enzyme charakterisiert sein.

Da es begreiflich erschien, daß durch die glatte Oberfläche der Kutikula die Adhäsionswirkung stark vermindert

26) de Bary. 1886. l. c. S. 439.
27) Kißling. 1889. l. c. S. 439.
28) Schmidt. Über den Parasitismus der Pilze. Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten. 1909. Bd. 19. S. 138.

würde, so wurde versucht, durch geeignete Anpressung diese mangelnde Adhäsion zu verstärken; es leuchtet ja ein, daß sich mit Erhöhung der Adhäsion ein stärkerer Reibungswiderstand und damit eine größere Kontaktwirkung ergibt. Aber weder die Anheftung mit einem Eiweißhäutchen, noch die Fixierung durch Gummi arabicum zeitigten Resultate. Die Sporen keimten aus, und die Hyphen wuchsen an der Membran entlang, ohne daß es zu einer stärkeren Haftorganbildung gekommen wäre. Eine Festlegung der Sporen durch einen dünnen Gipsüberzug war ebenso erfolglos; in diesem Falle unterblieb sogar meist noch die Keimung, was vielleicht auf den erschwerten Gasaustausch durch die mit Wasser vollständig imbibierte Gipslamelle hindurch zurückzuführen ist. Auch wenn die Kutikula auf mechanischem Wege rauh gemacht wurde, so verliefen trotzdem die Versuche resultatlos. Nur sobald bei diesem künstlichen Aufrauhen das subepidermoidale Gewebe verletzt wurde, trat sofort Infektion ein, was aus der Bräunung des protoplasmatischen Inhaltes[29]), sowie aus dem Nachweis von in den Zellen vegetierenden Hyphen zu schließen war.

Da es durch die genannten Vorbehandlungen nicht gelang, einen Durchbohrungseffekt zu erzielen, so mußten die Membranen tiefer greifenden, chemischen Einflüssen ausgesetzt werden, um sie durchbohrungsfähig zu machen; d. h. die Kutikula sollte auf chemischem Wege derart aufgeschlossen werden, daß den vordringenden Pilzhyphen kein unüberwindlicher Widerstand mehr entgegenstände.

Die Kutikularisierung einer Zellwand besteht bekanntlich in einer nachträglichen Einlagerung von Kutin in die zellulosehaltigen Membranen. Nach den neueren Untersuchungen[30]) handelt es sich bei den imprägnierenden Substanzen hauptsächlich um Glyzerinester der Stearin-, Palmitin- und Suberinsäure. Hierbei treten zum Teil Verbindungen auf, die sich durch ihre Unlöslichkeit in Chloroform, Äther etc. auszeichnen, die aber wohl durch Kali unter Aufnahme von Wasser (Hydrolyse) verseift werden können. Allerdings werden die Kutinsubstanzen durch wässerige Kalilösung bei gewöhnlicher Temperatur nicht zum Schwin-

29) Vgl. Nordhausen. 1899. l. c. S. 7.
30) Gilson. Bot. Zentralblatt. 1891. Bd. 45. S. 111.
Flückiger. Bot. Zentralblatt. 1892. Bd. 50. S. 90.
Van Wisselingh. Bot. Zentralblatt. 1895. Bd. 62. S. 234.

den gebracht; erst eine erwärmte, konzentrierte Kalilauge wirkt hydrolysierend.[31])

Um nun die nachträglich eingelagerten Substanzen aus den Zellwänden herauszulösen, wurden die Schnitte zunächst 24 Stunden mit 5 % warmer (33—35 °) Kalilauge behandelt und dann der Einwirkung von Äther und Alkohol ausgesetzt. Die auf diese Weise präparierten Membranen (Ilex, Camelie, Apfelschale u. a.) wurden sämtlich von den Versuchspilzen erfolgreich durchbohrt. Dieser Effekt trat nur bei der kombinierten chemischen Beeinflussung der Membranen ein, während die Behandlung mit dem einen oder mit dem andern der erwähnten Stoffe zu keinem Resultate führte.

Da bei einer intakten Kutikula der Austausch mit dem umgebenden Medium bezüglich der Transpiration und der Wasseraufnahme entsprechend eingeengt wird, so hindert ebenso eine stark kutikularisierte Schicht das diffusionelle Vordringen des vom Pilze sezernierten Enzyms, dessen Mitwirkung beim Zustandekommen einer Durchbohrung wohl stets anzunehmen ist. Während unter diesen Umständen eine Lockerung der Epidermis durch die Wirkung des Enzyms unterbleibt und die hohe Widerstandsfähigkeit der Membranen eine rein mechanische Durchbohrung von vornherein ausschließt, so wird durch die chemische Aufschließung der äußeren Zellwände, die durch Einwirkung geeigneter Agentien erfolgt, die Diffusion des Enzyms gefördert, die ihrerseits wieder zu einer weiteren, vermehrten Lockerung der Membran führt. Schließlich ist der von der Hyphe ausgeübte mechanische Druck hinreichend groß genug, den Durchbruch nach der Unterlage resp. nach dem subepidermoidalen Gewebe zu vermitteln.[32])

Versucht man eine Imitation der natürlichen Verhältnisse, indem man eine Zwiebelschalenepidermis mit einer äußerst dünnen Kakaobutterschicht überzieht, so ist niemals eine Durchbohrung zu verzeichnen. Zwar bedingte die rauhe Oberfläche der Fettschicht eine intensive Ausbildung von Appressorien, aber eine Ausstülpung aus diesen Organen, eine Entwicklung zu den sogenannten Infektionsfäden wurde niemals beobachtet. Wenn auch in dem vorliegenden

31) Van Wisselingh. 1895. l. c. S. 234.

32) Daß durch die Kali-Äther-Alkoholbehandlung der mechanische Widerstand einer Membran in erheblichem Maße herabgesetzt wird, siehe Tabelle I auf S. 35 der vorliegenden Arbeit.

Falle der Widerstand der Membran durch den künstlichen Überzug um einen geringen Betrag gesteigert wird, so ist vor allem in der Impermeabilität der Fettschicht, die ein Vordringen des Enzyms hindert, die Ursache dieses negativen Resultates zu suchen.

Durch diese Angaben ist hinreichend illustriert, daß eine stark entwickelte Kutikula wohl geeignet ist, den Angriff eines Pilzes auf die Wirtspflanze illusorisch zu machen. Es sind also die spezifischen Eigenschaften einer Epidermis, die für das Nichtzustandekommen einer Durchbohrung verantwortlich zu machen sind; und die Faktoren, die dabei in Frage kommen, sind einerseits die durch die Kutikularisierung erhöhte Widerstandsfähigkeit der Membran, anderseits die durch die Kutikula gehemmte Diffusion des Enzyms.

Bei dieser Gelegenheit sei auch die Frage gestreift, unter welche Kategorie das von den membrandurchbohrenden Pilzen (Botrytis) produzierte Enzym gehört. Früher nahm man die Existenz echter Zellulasen bei Schimmelpilzen allgemein an (*de Bary*[33]), *Ward*[34]) u. a.), indem man aus dem Eindringen in die Zellwände auf die Produktion zelluloselösender Fermente schloß. So glaubte auch *Behrens*[35]), experimentell den Nachweis geliefert zu haben, daß speziell Botrytis echte Zellulose anzugreifen vermag; aus der geringen Zunahme des Trockengewichts des Pilzes beim Vegetieren auf Fließpapier folgerte er die Sekretion von Zellulasen. Aber es ist wohl zu beachten[36]), daß während des Prozesses der Papierfabrikation durch die Behandlung mit Säuren und Alkalien die oberflächlichen Schichten der Zellulose derart eine Veränderung erleiden, daß sie leicht angreifbar werden. Derselbe Einwand ist vielleicht gegen die Versuche *Itersons*[37]) zu erheben, der auch Botrytis auf die vorhin genannte Weise als einen zelluloselösenden Pilz erkannte. Durch die exakten Untersuchungen *Schellenbergs*[38]) steht jetzt fest, daß Botrytis und mit ihm viele andere Schimmelpilze nicht imstande sind, echte Zellulose fermentativ anzugreifen; sie vermögen nur auf Hemizellulosen ver-

33) de Bary. 1886. l. c. S. 419.
34) Ward. On a lily-disease. Annals of Botany. 1888. Bd. 2. S. 374.
35) Behrens. 1898. l. c. S. 550.
36) Vgl. Schellenberg. 1908. l. c. S. 307.
37) Iterson. Die Zersetzung von Zellulosen durch aerobe Mikroorganismen. Zentralblatt f. Bakteriologie II. Abt. 1904. Bd. 11. S. 695. 696.
38) Schellenberg. 1908. l. c. S. 306. 307.

schiedenen Typus, die sich vor der echten Zellulose durch ihre leichtere Hydrolysierbarkeit auszeichnen, lösend einzuwirken. Es ist ferner durch *Schellenberg*[39]) bekannt, daß in fast allen Pflanzenmembranen neben echter Zellulose auch noch Hemizellulosen eingelagert sind, allerdings in wechselnder Quantität je nach dem Pflanzenorgan und nach dem Alter des betreffenden Pflanzenteils. Trifft nun ein Keimschlauch auf eine solche Membran, so wird durch Herauslösen der Hemizellulosen die Konsistenz der Membran so gelockert, daß der Druck der nachwachsenden Hyphenspitze die Ein- resp. Durchbohrung ermöglicht. Gerade die jugendlichen Pflanzenorgane bestehen aus einem weit höheren Prozentsatz an Hemizellulosen als ältere Teile. Weil ferner jene außerdem noch eine schwach entwickelte Kutikula besitzen, die dem diffusionellen Vordringen des Enzyms keinen wesentlichen Widerstand entgegensetzt, so ist es begreiflich, warum gerade junge Pflanzenteile dem Angriff der Botrytis leicht zum Opfer fallen.

2. Versuche mit tierischen Membranen.

Die Fähigkeit, tierische Membranen zu durchbohren, findet man naturgemäß bei solchen Pilzspezies ausgebildet, die parasitierend auf resp. in tierischen Organismen leben. Vor allem kommen hier die Mykosen bei Arthropoden in Betracht. Da der Arthropodenkörper von einem sehr resistenten Chitinpanzer umhüllt wird, so müssen von den in Frage kommenden infektiösen Pilzen, sofern es nicht andere Eingangswege gibt, Enzyme sezerniert werden, durch welche die Hyphen befähigt werden, die oft ziemlich dicke Chitinschicht zu durchdringen. Bekannt sind diese Verhältnisse durch *Brefeld*[40]) für den Pilz der Stubenfliegenkrankheit, Empusa Muscae, dessen Sporen bei der Keimung die abdominalen Chitinhäute durchbohren; desgl. für Cordyceps militaris durch die Untersuchungen *de Barys*[41]). Mit Leichtigkeit

39) Schellenberg. Über Hemizellulosen als Reservestoffe bei unsern Waldbäumen. Berichte d. deutschen bot. Gesellschaft. 1905. Bd. 23. S. 36.

40) Brefeld. Untersuchungen über die Entwicklung von Empusa Muscae u. Empusa radicans. Abhandl. d. naturf. Gesellsch. zu Halle. 1873. Bd. 12. S. 18ff.

41) de Bary. Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze. 1884. S. 381.

wird nach *Zopf*[42]) auch die Chitinhülle von Würmern (Anguilluliden, Rotatorien-Eiern) seitens höherer Pilze (besonders Arthrobotrytis) an den Ein- und Austrittstellen der Hyphen in Lösung gebracht; eine Angabe, die neuerdings *von Tubeuf*[43]) bestätigt hat. Ferner konnte *Miyoshi*[44]) konstatieren, daß die parasitisch lebenden Botrytis tenella und B. Bassiana Fliegenflügel, ebenso die dünnhäutigen Hinterflügel vom Maikäfer zu durchbohren vermögen. Für den letzteren Pilz hatte schon *de Bary*[45]) die Beobachtung gemacht, daß die Keimschläuche aktiv durch die Chitinhülle von Bombyciden eindringen können. Bekannt ist ja in dieser Hinsicht das früher oft epidemische Auftreten der B. Bassiana unter Seidenraupenzuchten.

Die Versuche, die *Miyoshi*[46]) mit seiner Botrytis cinerea und mit Penicillium glaucum anstellte, zeitigten das Resultat, daß diese Pilze nicht imstande sind, in Chitinhäute einzudringen. Es kann wohl kaum angenommen werden, daß die genannten Schimmelpilze durch Sekretion chitinlösender Enzyme ausgezeichnet sind; konnte doch *Benecke*[47]) nachweisen, daß bekannte Vertreter der Saprophytenflora (Mucor mucedo, Penicillium glaucum) nicht vegetieren können, wenn ihnen Chitin als alleinige C- oder N-Quelle dargeboten wird, daß sie also nicht fähig sind, durch Enzymwirkung die chitinigen Substanzen so aufzuschließen, daß die Abbauprodukte in den Stoffwechselprozeß hereingezogen werden können. Das gleiche Verhalten gilt auch für Botrytis vulgaris, wofür durch eigene Versuche der Nachweis erbracht wurde.[48])

---

42) Zopf. Die Pilze; in Schenk, Handbuch der Botanik. 1890. Bd. 4. S. 450.

43) von Tubeuf. Arbeiten a. d. Biol. Abt. am Kaiserl. Gesundheitsamt. 1901. Bd. 2. S. 350.

44) Miyoshi. 1895. l. c. S. 278.

45) de Bary. Zur Kenntnis insektentötender Pilze. Bot. Zeitg. 1869. Bd. 27. S. 589.

46) Miyoshi. 1895. l. c. S. 278.

47) Benecke. Über Bacillus chitinovorus, einen Chitin zersetzenden Spaltpilz. Bot. Zeitg. 1905. Bd. 63. S. 242.

48) Zu diesem Zwecke wurden Kölbchen, die Monokaliumphosphat, Magnesiumsulfat — zu je 0,05 % — und Chitin oder Chitin + Dextrose oder Chitin + Ammoniumnitrat enthielten, mit Botrytis-Konidien geimpft. Das Chitin wurde nach Beneckes Angaben (1905. l. c. S. 228) aus Palaemon squilla hergestellt. In allen drei Versuchsreihen konnte kein auffälliges Wachstum bemerkt werden, was als Beweis dafür angesehen wurde, daß Botrytis den N- oder C-Gehalt des Chitins nicht auszubeuten vermag.

Da anderseits ein Insektenflügel eine relativ elastische und resistente Fläche darstellt, so wird die bei einer Pilzhyphe disponible Kraft nicht hinreichend sein, eine rein mechanische Durchbohrung zu erzielen. Für eine Durchbohrung ist in diesen Fällen nicht die Qualität der Membran maßgebend, sondern allein die die Festigkeit bedingende Struktur. Es muß also gelingen, zarthäutige Insektenflügel, zu deren mechanischer Durchbohrung es nur minimaler Kräfte bedarf, von Schimmelpilzen erfolgreich perforieren zu lassen. So wurden denn auch die besonders dünnhäutigen Flügel von Neuropteren (vor allem kam Chrysopa perla in Betracht) von sämtlichen Versuchspilzen durchbohrt.

Die Fixierung der mikroskopischen Bildebene[49]) war hier eine natürliche: an der feinen Granulierung, die den Flügel auszeichnet, ebenso wie an dem Netzwerk des reich verzweigten Tracheensystems konnte mit ziemlicher Sicherheit entschieden werden, ob eine tatsächliche Durchbohrung vorlag oder ob die Pilzhyphe durch zufällig vorhandene Spalten oder Löcher den Weg in die Gelatineunterlage gefunden hatte.

Infolge des geringen Widerstandes, den die benutzten Neuropteren-Flügel einer Durchbohrung entgegensetzen, vermochten auch die weniger durchbohrungskräftigen Penicillium-Hyphen die Membran zu durchdringen. Manche Hyphen zeigten dabei gelegentlich eine charakteristische Eigentümlichkeit, indem sie sich in schlangenförmigen Windungen oder gekrümmten Kurven der Flügeloberfläche anschmiegten, um sich gewissermaßen für die ausschließlich mechanisch erfolgende Durchbohrung die nötige Widerlage erst zu verschaffen. Versuche, die mit derberen Flügeln (Dipteren, Hymenopteren, hartflügelige Orthopteren) angestellt wurden, verliefen wie die *Miyoshi*'schen resultatlos. In diesen Fällen ist offenbar der Widerstand zu groß, als daß er von den Hyphen überwunden werden könnte.

Erwähnt seien schließlich noch die Versuche, die mit andern tierischen Membranen angestellt wurden, nämlich mit Schwimmblasenstücken. Die Wandung einer Schwimmblase besteht, wie man sich leicht unter dem Mikroskop überzeugen kann, aus zwei Bindegewebeschichten, deren Fasern gekreuzt verlaufen. Eine Quellung resp. ein Auflösen der Fasern,

49) Gelegentlich wurde auch versucht, durch einen leichten Niederschlag von Berliner Blau oder durch Bestäubung der Membran mit Beinschwarz eine genaue Orientierung zu ermöglichen.

woraus man auf die Wirkung proteolytischer Enzyme hätte schließen können, war nicht zu bemerken. Die Hyphen zwängten sich vielmehr zwischen die Fasern ein, in ihrem Wachstum durch den Verlauf der fibrillären Struktur bestimmt, indem sie durch keilförmige Wirkung die dicht aneinander liegenden Bindegewebefasern auseinanderdrängten, dann bis zur unteren, diagonal verlaufenden Schicht vordrangen, um von hier aus, dem neuen Richtungsverlauf folgend, schließlich in die Unterlage zu gelangen.

Auch hier resultierte die Durchbohrung als rein mechanischer Effekt. Die Hyphen zeigten die Tendenz, stets in den Zonen des geringsten Widerstandes zu wachsen.

3. Versuche mit künstlichen Membranen.

Versuche, die mit künstlich hergestellten Membranen ausgeführt wurden, finden wir schon bei *Miyoshi*[50]) angegeben. Dieser Autor benutzte dünn ausgegossene Kollodiumhäutchen, denen er zur Erhöhung der Geschmeidigkeit etwas Mandelöl zugefügt hatte. Desgleichen kamen Membranen aus künstlicher Zellulose zur Anwendung. *Miyoshi* fand in allen diesen Fällen Durchbohrung unter mehr oder weniger starker Ausbildung von Haftorganen.

Diese Versuche konnten durchweg bestätigt werden. War das Kollodiumhäutchen mit Mandelöl, Rizinusöl oder Ölsäure imprägniert, so konnte stets Durchbohrung beobachtet werden. Ebenso wurden Blättchen aus künstlicher Zellulose[51]) sicher perforiert. Die Versuche wurden aber in der Weise noch ergänzt, daß chemisch reines Kollodium[52]), möglichst dünn ausgegossen, nicht durchbohrt wird. Es kommt bis zur charakteristischen Ausbildung der Haftorgane, aber wirklicher Durchbohrungseffekt konnte nur äußerst selten und nur bei ganz dünnen Blättchen beobachtet werden.

Da solche Membranen naturgemäß so durchsichtig sind, daß keine Fixation der mikroskopischen Bildebene möglich ist, so mußte dafür Sorge getragen werden, daß durch Markierung isolierter Punkte die Bildebene deutlich hervorträte. Eine Färbung des Kollodiums mit ätherlöslichen Tinktionen

50) Miyoshi. 1895. l. c. S. 275. 276.

51) Vgl. über die Herstellung künstlicher Zellulose: Baranetzky. Annalen d. Physik. 1872. Bd. 27. S. 220.

52) Das von Grübler-Leipzig bezogene Kollodium duplex enthält nach Angabe der Firma keine öligen oder fettigen Substanzen.

erschien nicht ratsam, da durch diese homogene Färbung die bezweckte Absicht nicht zu erreichen war, indem keine diskreten Punkte markiert wurden, durch die ein Einstellen des Mikroskops auf eine bestimmte Ebene erst ermöglicht wird. Als besonders vorteilhaft erwies sich eine Suspension von Beinschwarz in Äther, der dann etwas Kollodium zugesetzt wurde. Auf diese Weise wurde eine Kollodiummembran geschaffen, in der einzelne Kohlepartikelchen isoliert eingebettet lagen, die eine genaue Orientierung verbürgten.

Das abweichende Verhalten reinen Kollodiums gegenüber dem mit fetten Ölen versetzten erklärt sich daraus, daß durch den Zusatz dieser Agentien die Geschmeidigkeit erhöht, der innere Zusammenhang der Membran gelockert und dadurch der Widerstand in bedeutendem Maße herabgesetzt wird[53]). Nach einer Angabe *Schellenbergs*[54]) vermag Botrytis zwar reines Kollodium etwas anzugreifen, aber diese Lösungsfähigkeit ist offenbar nur in so bescheidenem Grade vorhanden, daß der Druck der fortwachsenden Hyphenspitze oder der aus den Appressorien hervorgehenden Infektionsfäden nicht ausreichend ist, den Widerstand der etwas gelockerten Membran aus reinem Kollodium zu überwinden.

Anderseits ist bei der leichten Durchbohrbarkeit mit fetten Ölen versetzter Kollodiumhäutchen an eine Wirkung fettspaltender Enzyme (Lipasen) zu denken, die von den Hyphen sezerniert werden. Wie schon *Schmidt*[55]) konstatiert hat, haben Schimmelpilze, wie Aspergillus niger, die Fähigkeit, hochmolekulare Fette durch lipolytische Enzyme zu zerstören, um in dem durch die Spaltung entstandenen Glyzerin einen leicht aufnehmbaren, vollwertigen Nährstoff als C-Quelle zu gewinnen. Die späteren Untersuchungen von *Spiekermann* und *Brehmer*[56]) u. a. haben gezeigt, daß die Eigenschaft, Fette zu zerstören und höhere Fettsäuren zu assimilieren, einer großen Anzahl von Eumyceten zukommt. Es ist auch *Gérard*[57]) gelungen, bei Penicillium eine Lipase nachzuweisen; ebenso ist nach *Camus*[57]) die Existenz eines fettspaltenden Enzyms bei Aspergillus wahrscheinlich, wie auch schon aus der Tatsache, daß bei Pilzen

53) Vgl. Tabelle I auf S. 35 der vorliegenden Arbeit.
54) Schellenberg. 1908. l. c. S. 306.
55) Schmidt. Aufnahme und Verarbeitung von fetten Ölen durch Pflanzen. Flora 1891. S. 369.
56) Vgl. Czapek. Biochemie der Pflanzen. 1905. Bd. I. S. 148.
57) Desgl.

das Fett in Gestalt großer, glänzender Tropfen als gewöhnlicher Reservestoff fungiert, auf die Fähigkeit, fette Öle zu resorbieren, geschlossen werden kann.

Es ist also wegen dieser fettspaltenden Eigenschaften bei Pilzen wohl möglich, daß die mit Ölen imprägnierte Kollodiumhaut durch Herauslösung der in der Membran eingebetteten Ölkügelchen in ihrer Konsistenz so gelockert resp. auf chemischem Wege so aufgeschlossen wird, daß es des Aufwandes nur geringer Druckkräfte bedarf, um die Membran erfolgreich zu durchbohren.

IV. Bedeutung der chemotropischen Reizung für die Durchbohrung.

Als durch die grundlegenden Publikationen von *Pfeffer*[58]) bei beweglichen Organismen chemotaktische Reizbewegungen konstatiert waren, d. h. daß diese Formen durch chemische Agentien dirigierend beeinflußt werden, so lag der Analogieschluß nahe, daß auch für wachsende Pilzhyphen ähnliche Verhältnisse in Betracht kommen könnten. In bezug auf das Einwachsen parasitischer Pilze in ihre Nährpflanzen hatte schon *de Bary*[59]) die Frage zur Diskussion gestellt, ob nicht das Hinwachsen einer Hyphe gegen die Epidermis der Wirtspflanze als eine spezifische Reaktion des parasitären Pilzes auf bestimmte physikalische oder chemische Reize zu deuten sei, die durch unbekannte Sekretionen seitens der Wirtspflanze ausgelöst werden. Außer Arbeiten älteren Datums (so die von *Kihlmann*[60]), *Wortmann*[61]), *Reinhardt*[62]), *Büsgen*[63]), wo über Erscheinungen be-

58) Pfeffer. Lokomotorische Richtungsbewegungen durch chemische Reize. Unters. a. d. bot. Inst. z. Tübingen. 1884. I. S. 398.
Pfeffer. Über chemotaktische Bewegungen von Bakterien, Flagellaten und Volvocineen. Unters. a. d. bot. Inst. zu Tübingen. 1888. II. S. 585.

59) de Bary. 1884. l. c. S. 393.

60) Kihlmann. Zur Entwicklungsgeschichte der Ascomyzeten. Act. Soc. Scient. Fennicae XIII. 1883.

61) Wortmann. Zur Kenntnis der Reizbewegungen. Bot. Zeitg. 1887. Bd. 45. S. 812.

62) Reinhardt. Das Wachstum der Pilzhyphen. Jahrb. f. wiss. Bot. 1891. Bd. 23. S. 502.

63) Büsgen. Über einige Eigenschaften der Keimlinge parasitischer Pilze. Bot. Zeitg. 1893. Bd. 51. S. 53.

richtet wird, die nun als Chemotropismus zu deuten sind, verdienen vor allem die Untersuchungen *Miyoshis*[64]) Erwähnung, der zuerst den Chemotropismus bestimmter saprophytischer Pilze zum Gegenstand eines systematischen und ausgedehnt experimentellen Studiums machte. Er stellte in der Regel seine Versuche so an, daß er lebende Blätter von Tradescantia mit der zu prüfenden Substanz in wässeriger Lösung injizierte und dann auf die angefeuchtete, mit Spaltöffnungen versehene Blattunterseite die Pilzsporen aussäte.[65]) Der injizierte Stoff diffundiert durch die Stomata nach außen; und sofern die Pilzhyphen chemotropisch sensibel sind, muß durch das diffusionell entstehende Konzentrationsgefälle eine Änderung der Wachstumsrichtung derart eintreten, daß bei positiv chemotropisch wirkenden Substanzen ein Hineinwachsen in die Spaltöffnungen, bei negativ chemotropischen Stoffen ein Repulsionseffekt resultiert. Aus der experimentellen Prüfung verschiedener chemischer Agentien in bezug auf ihre Attraktionswerte geht hervor, daß vor allem sich die krystalloiden Körper (wie Ammonverbindungen, Phosphate, Zucker) als auffallend gute Lockmittel erwiesen, während Repulsionen bei Anwendung von freien organischen und anorganischen Säuren, ferner bei Gebrauch von Kaliumnitrat, Magnesiumsulfat u. a. konstatiert wurden, auch dann, wenn diese Substanzen in Konzentrationen dargeboten wurden, die ein ungestörtes Wachstum ermöglichen.

Während nach diesen Forschungen kaum an der Existenz einer chemotropischen Sensibilität bei Pilzhyphen gezweifelt werden konnte, sind in neuerer Zeit Arbeiten[66]) erschienen, die zu ganz anderen Ergebnissen gelangten, als sie eben charakterisiert wurden. Schon vorher hatte *Stange*[67]) bei seinen Untersuchungen niemals eine Ablenkung der Saprolegnia-Hyphen nach der Richtung der Nahrungsquelle hin einwandfrei konstatieren können; er erhielt nur ein üppiges und kräftiges Wachstum, d. h. eine starke lokale Vermehrung innerhalb der Diffusionssphäre, die sich rings um das Nährsubstrat ausbreitet. Desgleichen wurde bei

64) Miyoshi. 1894. l. c. S. 1.
65) Miyoshi. 1894. l. c. S. 3. 4.
66) Clark. 1902. l. c. S. 47.
Fulton. 1906. l. c. S. 106.
67) Stange. Über chemotaktische Reizbewegungen. Bot. Zeit. 1890. Bd. 48. S. 140.

Penicillium-Hyphen keine Ablenkung durch Nährstoffe gefunden, sondern nur eine reichlichere Verzweigung, sobald sie den von einer Kapillare ausgehenden Diffusionsstrom erreichten. Ferner konnte *Clark*[68]) nachweisen, daß bei Anwendung der *Miyoshi*'schen Methodik die Hyphen von Mucor stolonifer vom Nährmedium aus auch in solche Substrate wuchsen, die giftige Substanzen enthielten, wie Kupfer-, Kobalt-, Nickel-, Zinksalze, selbst noch bei Konzentrationen, die eine letale Wirkung auf die in das Substrat eingedrungenen Hyphen ausübten. Die Hyphen wurden ebenso gegen Medien abgelenkt, die Nährstoffe enthielten oder nicht, wie gegen destilliertes Wasser. Auch *Fulton*[69]) gelang es nicht, durch seine Versuche die Existenz eines ausgesprochenen Chemotropismus wahrscheinlich zu machen, der durch Nährstoffe oder andere chemische Verbindungen induziert würde. Diejenigen Stoffe, die ein gutes Nährmaterial für Pilze darstellen, geben nur Veranlassung zu lebhaftem Wachstum und reicher Verzweigung, können aber keine auffallendere Ablenkung der Hyphen nach Diffusionszentren hin hervorbringen, als es nicht nährende oder gar giftige Substanzen zu tun vermögen.

Was nun die Bedeutung des Chemotropismus für das Zustandekommen einer Membrandurchbohrung anlangt, so hat *Miyoshi*[70]) darauf hingewiesen, daß vor allem chemotropische Reize die Pilze zum Durchbohren von Membranen veranlassen, dabei voraussetzend, daß die Hyphen entweder auf chemischem Wege durch Auflösen der Membranbestandteile oder durch mechanische Kräfte das Hindernis zu überwinden vermögen. Seine Anschauung ist die, daß geringe Quantitäten Nährstoffe durch die Membranen diffundieren und einen chemotropischen Reiz auf die oberhalb der Versuchshaut wachsenden Hyphen ausüben. Infolge des dirigierend wirkenden Reizes kommt es zu einem intensiven Hinwachsen der Hyphen nach der nährstoffhaltigen Unterlage, wodurch an der trennenden Membran ein ausgelöster Kontaktreiz zur Ausbildung kräftiger Haftorgane Veranlassung gibt, aus denen, wiederum durch chemotropische Reize bewirkt, schließlich die Formierung besonderer Fortsätze, der Infektionsfäden, erfolgt. *Büsgen*[71]) erklärt das

68) Clark. 1902. l. c. S. 47.
69) Fulton. 1906. l. c. S. 106.
70) Miyoshi. 1894. l. c. S. 24. 1895. l. c. S. 270.
71) Büsgen. 1893. l. c. S. 58—60.

Zustandekommen einer Infektion durch Botrytis dadurch, daß erstens die Keimschläuche durch einen chemotropischen Reiz veranlaßt werden, der Wirtsepidermis zuzuwachsen, und daß zweitens die eigentliche Durchbohrung durch Kontaktreiz verursacht wird; eine Anschauung, die auch *Ward*[72]) für die von ihm untersuchte Lilien-Botrytis teilt. Eine andere Auffassung vertritt *Schmidt*[73]), der positiven Chemotropismus für einen charakteristischen Vertreter parasitärer Pilze nachgewiesen hat, für eine auf Pirus communis parasitierende Phyllostica. Während *Büsgen*, *Miyoshi* u. a. für das Eintreten einer Membrandurchbohrung und damit der eigentlichen Infektion den chemotropischen Reiz als den Primäreffekt ansprechen, glaubt *Schmidt* aus seinen Experimenten schließen zu dürfen, daß der Pilz erst durch enzymatische, toxische oder rein mechanische Kräfte das gesunde Gefüge der Epidermis verändern muß; dadurch werde ein Diffusionsstrom hervorgerufen, der dann als dirigierender Reiz auf die wachsenden Hyphen wirken könne.

Mit Rücksicht auf die oft sich widersprechenden Angaben, wie sie in den eben zitierten Arbeiten zu Tage treten, erschien eine erneute, experimentelle Prüfung der Frage geboten, inwieweit eine chemotropische Reaktion seitens des Pilzes für eine Membrandurchbohrung resp. für eine Infektion der Wirtspflanze maßgebend sei. Es wurde schon hervorgehoben, daß nach *Miyoshi* eine Pilzhyphe nur dann eine Membran durchbohren kann, wenn sich unterhalb derselben ein positiv chemotropisch wirkendes Agens befindet; sofern aber ein Stoff negativ chemotropisch aktiv ist, darf kein Durchbohrungseffekt beobachtet werden, weil jener eine Wachstumsrichtung vom Substrat weg auslöst.

Es konnte aber, um gleich das Resultat der mitzuteilenden Versuche vornwegzunehmen, stets konstatiert werden, daß die Hyphen, unbekümmert um das bestehende Konzentrationsgefälle, ohne Rücksicht auf die in der Unterlage befindlichen Stoffe die trennende, kontinuierliche Membran durchbohrten.

Es wurde zunächst die Gelatineunterlage mit Stoffen versetzt, die nach *Miyoshi*[74]) in den angegebenen Konzentrationen negativ chemotropisch wirken sollen. Erhielt die

72) Ward. 1888. l. c. S. 317.
73) Schmidt. 1909. l. c. S. 143.
74) Miyoshi. 1894. l. c. S. 15; 16.

als Unterlage dienende 10 % Gelatine einen entsprechenden Zusatz von Kaliumtartrat, Kaliumnitrat, Kaliumchlorat, Kaliumsulfat, so konnte stets eine Durchbohrung erzielt werden. Selbst wenn die Unterlage bis zu 1 % Kupfersulfat enthielt, erfolgte Durchbohrung. Die Resistenz der Schimmelpilze gegenüber Kupfer, wie überhaupt gegen Metallgifte ist bekannt.[75]) So fand *Behrens*[76]), daß selbst die höchst angewandten Konzentrationen (1 % Cu SO_4) die Entwicklung der Botrytis wohl verzögern, aber nicht verhindern konnten. In den eigenen Versuchen war allerdings infolge der Giftigkeit der Kupferverbindung der Prozentsatz der gekeimten Sporen wesentlich herabgesetzt, wie auch die dürftige Entwicklung der Hyphen auf die anormalen Vegetationsbedingungen hinwies. Diese Versuche stehen im Einklang mit den Befunden von *Clark*[77]) und *Fulton*[78]), die gezeigt haben, daß auch eine letal wirkende Konzentration typisch giftiger Substanzen keineswegs die Hyphen hindern kann, dem die Gifte enthaltenden Substrate zuzuwachsen.

Auch ein Zusatz von 1 % Äpfelsäure, die ebenfalls nach *Miyoshi*[79]) negativ chemotropische Effekte hervorrufen soll, konnte die Durchbohrung nicht hemmen. Auf Grund seiner Versuche kommt auch *Behrens*[80]) zu dem bemerkenswerten Schluß, daß die Äpfelsäure keinen schädigenden Einfluß auf das Wachstum der von ihm untersuchten Schimmelpilze ausübt, daß also diese organische Säure kein Schutzmittel gegen das Eindringen der Hyphen in Früchte darstellt. Es ist ja bekannt, daß gerade Botrytis außerordentlich gern auf säurereichen Früchten vorkommt. Seit den Untersuchungen von *Müller-Thurgau*[81]) wissen wir auch, daß die sogenannte Edelfäule der Weinbeeren gerade dadurch hervorgerufen wird, daß Botrytis die reifen Beeren befällt und die vorhandene Säure aufzehrt, während das Morschwerden der Beerenhaut eine reichliche Verdunstung des Wassers und eine Steigerung der Konzentration des Zuckergehaltes im Fruchtinhalt bedingt.

75) Vgl. Pulst. Die Widerstandsfähigkeit einiger Schimmelpilze gegen Metallgifte. Jahrb. f. wiss. Bot. 1902. Bd. 37. S. 250.
76) Behrens. 1898. l. c. S. 775.
77) Clark. 1902. l. c. S. 47.
78) Fulton. 1906. l. c. S. 106.
79) Miyoshi. 1894. l. c. S. 16.
80) Behrens. 1898. l. c. S. 641; 740.
81) Müller-Thurgau. Die Edelfäule der Trauben. Landwirtschaftl. Jahrb. 1888. Bd. 17. S. 83 ff.

Diese Versuche stehen in einem gewissen Widerspruch zu den Angaben *Massees*[82]), nach denen Botrytis deshalb keine Äpfel infizieren kann, weil die auf Botrytis negativ chemotropisch einwirkende Äpfelsäure die Einbohrung hindert. *Massee* vertritt überhaupt den Standpunkt, daß gegen Pilzinfektionen immune Pflanzen ihre Immunität lediglich der Abwesenheit spezifisch attraktiver Substanzen verdanken. Es wurde aber bereits im dritten Abschnitt[83]) hervorgehoben, daß auch für die Apfelschale die physikalischen Eigenschaften der Epidermis in der Hauptsache diejenigen Faktoren sind, die eine Durchbohrung und damit eine Infektion ausschließen.

Während in den eben referierten Versuchen negativ chemotropische Substanzen die Durchbohrung nicht hemmen konnten, so vermochte auch das Fehlen eines dirigierend wirkenden Konzentrationsgefälles die Hyphen nicht abzuhalten, eine entgegenstehende Membran zu durchbrechen. Wurden die Versuche in der Weise ausgeführt, daß als Unterlage reine Gelatine diente, während die Pilzsporen oberhalb der Membran in einer Gelatineschicht mit 2 % Rohrzucker zur Aussäung gelangten, so war der Endeffekt immer derselbe: die Membran wurde von den auf sie treffenden Hyphen durchbohrt. Selbst wenn sich die Membran in einem homogenen Medium befand, wo also für einen Ausgleich der Reizwirkungen gesorgt war, so trat immer Durchbohrung ein. Es erwies sich dabei als gleichgültig, in welcher Flüssigkeit die Membran eingebettet lag, natürlich mit der Voraussetzung, daß die benutzte Flüssigkeit ein Wachstum überhaupt ermöglichte. So konnte Durchbohrung beobachtet werden, wenn sich die Membran in reinem destillierten Wasser[84])

---

82) Massee. On the origin of parasitism in fungi. Annals of Botany. 1904. Bd. 18. S. 320.

83) Vgl. S. 11; 14 der vorliegenden Arbeit.

84) Wenn die Sporen von Penicillium und Aspergillus bei diesen Versuchen auch in reinem Wasser auskeimten, so steht diese Beobachtung keineswegs im Widerspruch zu Duggars Befunden (Bot. Gaz. 1901. Bd. 31. S. 38), nach denen bei den genannten Pilzen ein die Keimung auslösender chemischer Reiz notwendig ist. In unserem Falle genügen vielleicht schon die aus der Membran in das umgebende Medium diffundierenden Stoffe, um den Keimprozeß zu veranlassen. Für Botrytis ist nach Clark (Bot. Gaz. 1899. S. 289) und Büsgen (1893. l. c. S. 59) bekannt, daß die Sporen schon an und für sich in reinem Wasser auskeimen.

befand, desgl. in Zuckerlösungen, in Kaliumnitratlösungen, in Pflaumendekokt bei Anwendung mäßiger Konzentrationen.

Nach *Miyoshis*[85]) Angaben sollen hochprozentige Lösungen von solchen Stoffen, die in geringen Konzentrationen positiv gerichtete Krümmungsbewegungen auslösen, Repulsionseffekte zeitigen: sie müßten also nach *Miyoshis* Auffassung eine Membrandurchbohrung ausschließen. Es konnte aber stets konstatiert werden, daß auch in diesen Fällen Durchbohrungserscheinungen nicht ausblieben. Botrytis drang sogar in eine Unterlage vor, die bis 50 % Rohrzucker enthielt. Die eingedrungenen Hyphen vegetierten weiter, ohne daß ein evidenter Einfluß dieser stark osmotisch wirkenden Substanz zu verzeichnen gewesen wäre. Es ist auch bekannt, daß Schimmelpilze in ungewöhnlichem Grade befähigt sind, auf konzentrierten Lösungen zu gedeihen.[86])

Die vorstehenden Versuche beweisen, daß der Chemotropismus nicht in dem hohen Maße für das Zustandekommen einer Durchbohrung verantwortlich gemacht werden kann, wie es von *Miyoshi* versucht worden ist. Die Abwesenheit resp. die gleiche Verteilung von chemotropisch aktiven Stoffen stellen für die Membranperforation ebensowenig einen Hindernisgrund dar wie ein Konzentrationsgefälle, in dessen Richtung das Hyphenwachstum erfolgt. Vielleicht ist es sogar möglich, daß bei normal angelegten Versuchen (normal in dem Sinne, daß die Unterlage als Diffusionszentrum fungiert) eine chemotropische Reaktion seitens der Pilzhyphen insofern ausgeschlossen wird, als durch die Behandlung der Membran mit Alkohol, durch den die Inhaltsstoffe extrahiert werden sollten, die Kutikula so an Permeabilität gewinnt, daß die anfangs bestehende Konzentrationsdifferenz sich rasch ausgleicht und die so resultierende Gleichheit der Konzentration auf beiden Seiten keinen chemotropischen Effekt bei den keimenden Pilzsporen hervorzubringen vermag. In den *Miyoshi*'schen Versuchen[87]) trat nie Durchbohrung ein, sobald kein dirigierend wirkendes Konzentrationsgefälle vorhanden war; die Hyphen wuchsen nur der Membran angeschmiegt weiter. Wenn aber eine Hyphe der Membran dicht angeschmiegt ist, in innigem Kon-

85) Miyoshi. 1894. l. c. S. 16.

86) Vgl. Eschenhagen. Einfluß der Lösungen verschiedener Konzentration auf Schimmelpilze. Diss. Leipzig 1889.

87) Miyoshi. 1895. l. c. S. 272.

nex mit derselben steht, so dürften damit die Bedingungen der Durchbohrung realisiert sein: die lokale Wirkung eines sezernierten Enzyms, ebenso wie die für eine mechanische Durchbrechung erforderliche Widerlage.

Während verschiedenartige Stoffe in der Unterlage die Wachstumsrichtung der Hyphen nicht derart beeinflussen können, daß eine Membrandurchbohrung ausgeschlossen wird, so ist es anderseits wohl möglich, daß der Pilz nur durch spezifische Abbauprodukte der pflanzlichen Membranen beeinflußt werden könnte. Der Chemotropismus würde dann nicht, wie *Miyoshi* annimmt, sofort in Aktion treten, sondern der Pilz müßte erst analog der Anschauung, wie sie *Schmidt*[88]) für rein parasitäre Pilze vertritt, durch chemische, toxische oder mechanische Einwirkungen die trennende Membran so verändern, daß ein Diffusionsstrom hervorgerufen würde, der dann die weitere Wachstumsrichtung des Pilzes abgeben könnte. Diese Auffassung hat überhaupt viel für sich. Für die meisten saprophytisch vegetierenden Pilze ist die Sekretion mehr oder minder wirksamer Giftstoffe bekannt, die für das Protoplasma tödlich sind. Von einer toxischen Wirkung der Botrytis auf zartwandige Pflanzenpartien berichtet *Nordhausen*[89]). Durch einen schon in den frühesten Stadien des Keimprozesses sezernierten und äußerst wirksamen Giftstoff wird das Protoplasma der Epidermiszellen der befallenen Pflanze abgetötet und dadurch der Mutterboden für die Myzelentwicklung geschaffen. Erst dann, wenn die Zelle abgestorben ist, vermag die Botrytis-Hyphe in sie einzudringen. Es hat auch bereits *Wehmer*[90]) darauf aufmerksam gemacht, daß schon der lose Kontakt der Hyphen mit den Wirtszellen deren rasches Absterben bedingt. *Behrens*[91]), der auch auf das Botrytis-Gift hingewiesen hat, für das er den speziellen Nachweis geführt hat, daß es sich dabei nicht um Stoffe enzymatischer Natur handeln kann, vertritt die Annahme, daß auch andere Fäulniserreger (Penicillium, Mucor stolonifer) Gifte produzieren, die auf Pflanzenzellen tödlich wirken. *Nordhausen*[92]) be-

88) Schmidt. 1909. l. c. S. 143.
89) Nordhausen. 1899. l. c. S. 7; 8.
90) Wehmer. Durch Botrytis hervorgerufene Blattfäule von Zimmerpflanzen. Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten. 1894. Bd. 4. S. 204.
91) Behrens. 1898. l. c. S. 548.
92) Nordhausen. 1899. l. c. S. 42.

streitet allerdings diese Tatsache; aber es ist zu beachten, daß gerade das Penicillium-Gift[93]) viel weniger aktiv ist, daß lebende Parenchymzellen gegen dieses Gift erheblich resistenter sind als z. B. Fruchtfleischzellen; und an dieser geringen Aktivität des Giftstoffes dürfte es mit liegen, warum Penicillium als reiner Parasit nicht auftritt, während Botrytis infolge der bedeutend größeren Wirksamkeit seines Giftes dazu befähigt ist.

An dieser Stelle sei noch ein anderer Punkt erwähnt. Man kann häufig beobachten, daß die Durchbohrung gerade an den Querwänden erfolgt, sobald es sich um widerstandsfähigere Membranen handelt (z. B. Tradescantia). Sät man dagegen die Sporen auf einer Allium-Epidermis aus, so wird man die Durchbohrungsstellen an allen beliebigen Punkten finden können. Daß gerade die Querwände bevorzugt werden, erklärt *Büsgen*[94]) aus der Diffusion chemotropisch aktiver Substanzen, die hauptsächlich an den genannten Stellen stattfinden soll, eine Annahme, die er durch die Ansammlung mobiler Bakterien an besagten Punkten glaubhaft zu machen sucht. *Nordhausen*[95]) dagegen vermutet andere Momente. Da die Außenwände der Epidermiszellen sich nach außen vorwölben, so bilden die direkt über den Querwänden liegenden Partien ein System von Vertiefungen. Mit dem sich hier ansammelnden Wasser ist die Grundbedingung für eine erfolgreiche Keimung gegeben. Am meisten für sich hat die Interpretation *Schellenbergs*.[96]) Nach diesem Autor bauen sich die Querwände hauptsächlich aus leicht angreifbaren Hemizellulosen auf, die infolgedessen einem chemischen Angriff seitens des Pilzes wenig Widerstand leisten. Gerade die Mittellamelle, die an der Zellgrenze nach außen stößt und bei jugendlichen Organen von einer nur schwach entwickelten Kutikula bedeckt ist, besteht nach *Schellenberg* vorwiegend aus Hemizellulosen, sodaß es für den Pilz leicht ist, sich durch Auflösen dieser Substanzen einen Weg ins Pflanzeninnere zu bahnen.

Dabei können auch die beiden anderen Erklärungsversuche immer noch zu Recht bestehen, indem durch die eine oder die andere Annahme gerade an den Querwänden ein

93) Behrens. 1898. l. c. S. 584.
94) Büsgen. 1893. l. c. S. 59.
95) Nordhausen. 1899. l. c. S. 10.
96) Schellenberg. 1908. l. c. S. 279.

intensiveres Wachstum möglich gemacht erscheint, sodaß am realisierten Endeffekt schließlich alle drei Faktoren beteiligt sein können.

V. Haptotropisches Verhalten der Pilzhyphen.

Der Kontakt mit festen Körpern oder Flüssigkeitsoberflächen vermag bei verschiedenen Pilzen als Reiz wirken, der zur Bildung different gestalteter Wachstumsformen führt. Als Folge einer Kontaktreizbarkeit ist in dieser Hinsicht die Entstehung der Haftorgane bei Mucor stolonifer[97]) anzusehen, ebenso wie die Appressorienbildung bei Botrytis, wo durch den Berührungsreiz die Bildung auffallend geformter Organe veranlaßt wird.[98]) Eine relativ erschöpfende Darstellung des Haptotropismus vom physiologischen Standpunkt aus finden wir bei *Büsgen*.[99]) Die charakteristische Wirkung des Kontaktreizes bei Botrytis besteht nach *Büsgen*[100]) darin, daß das Wachstum der Hyphenenden oft unter Anschwellung sistiert wird und daß ferner nach dem entgegenstehenden Körper hin gerichtete und ihm teilweise angeschmiegte Ausstülpungen produziert werden. Gibt der berührte Körper nicht nach, so kommt die Bildung neuer Ausstülpungen zustande, während in dem Falle, daß der Körper durchbrochen werden kann, die Ausstülpung des Haftorgans zu einer normal gestalteten Hyphe auswächst. *Büsgen* konnte auch zeigen, daß schon der Kontakt mit der Oberfläche eines Wassertropfens die Bildung von Haftorganen auslöst, daß also der relativ geringe Spannungswiderstand, für dessen Maß *Massart*[101]) 7,5 mgr pro mm angibt, von Botrytis perzipiert werden kann. Dagegen vermag nach eigenen Versuchen die geringe Oberflächenspannung eines Öltropfens noch nicht die Veranlassung zur Entstehung von Appressorien zu geben. Die Hyphen durchbrechen vielmehr, indem sie ruhig in ihrer

97) Wortmann. Ein Beitrag zur Biologie der Mucorineen. Bot. Zeitg. 1881. Bd. 39. S. 385.

98) Vgl. de Bary. 1886. l. c. S. 377.

99) Büsgen. 1893. l. c. S. 53.

100) Büsgen. 1893. l. c. S. 57.

101) Vgl. Büsgen. 1893. l. c. S. 57.

Wachstumsrichtung verharren, also gleichgültig, ob sie senkrecht oder unter einem spitzen Winkel das Flüssigkeitshäutchen treffen, die Flüssigkeitsoberfläche, ohne daß es zu irgend einer lokalen Anschwellung am Hyphenende kommt. Dabei ist es ohne Einfluß, ob der Öltropfen gegen Wasser oder Luft grenzt. Da die in der Oberfläche wirkende Spannung von den beiden, in einer Trennungsfläche sich berührenden Flüssigkeiten abhängig ist, so wird sie für die Öloberfläche verschieden sein, je nachdem diese an Luft oder Wasser grenzt. Im ersten Falle ist sie größer als im zweiten. Für Olivenöl gegen Luft beträgt die Konstante der Oberflächenspannung 0,038 gr pro cm; für Olivenöl gegen Wasser dagegen nur 0.021 gr pro cm.[102]) Es folgt aus diesen Versuchen, daß der Widerstand der Oberfläche eines Wassertropfens (mit 0,075 gr pro cm) beinahe den Schwellenwert für die Kontaktreizbarkeit speziell bei Botrytis abgibt.

Während nach *Büsgen*[103]) schon die geringe Konsistenz einer Gelatineoberfläche, die nur kurze Zeit der Verdunstung ausgesetzt war, genügt, um Kontaktwirkung auszulösen, so erweist sich doch der Widerstand einer gequollenen, reichlich mit Wasser imbibierten Gelatineschicht zu gering, als daß er eine Haftorganbildung veranlassen könnte. Überhaupt bleibt beim Auftreffen auf weiche Körper die Appressorienbildung aus, weil eben für die Perzeption eines Kontaktreizes die Differenz maßgebend ist, die zwischen dem Widerstand besteht, der in dem zuvor umgebenden Medium dem Vordringen der Hyphen entgegenwirkt, und dem, den die Oberfläche des neuen entgegentretenden Körpers aufweist.

Während bei Botrytis beim Durchbohren relativ widerstandsfähiger Membranen (z. B. Tradescantia) eine strenge Differenzierung zwischen Appressorien und normalen Hyphen zur Ausbildung kommt, vermißt man eine solche Sonderung bei den andern Schimmelpilzen (Penicillium, Aspergillus). Hier übernehmen die Hyphen selbst die Aufgabe, das Myzel am Substrat zu befestigen, indem sie sich der Oberfläche dicht anschmiegen. Solche Hyphen dürften einen elliptischen Querschnitt besitzen, sodaß sie mit der Breitseite der Membran aufliegen. Es ist gewissermaßen die Tendenz vorhanden, mit einer möglichst großen Fläche

102) Warburg. Lehrbuch der Physik. 1905. S. 96.
103) Büsgen. 1893. l. c. S. 57.

der Unterlage in innige Verbindung zu treten. Durch die Adhäsion zwischen Hyphe einerseits und Membran anderseits wird der Kontakt zwischen beiden Elementen so innig, daß dadurch in bezug auf die für die Entfaltung eines mechanischen Druckes notwendige Widerlage hinreichend gesorgt ist. Wie fest solche Hyphen zu haften vermögen, beweist die Tatsache, daß die doch ganz erhebliche Kraft eines wirksamen Wasserleitungsstrahles nicht ausreicht, die Hyphen vom Substrat zu trennen. Diese Kontakthyphen fallen schon durch ihr verschiedenartiges Aussehen ins Auge, sodaß sie sich leicht von den übrigen vegetativen Hyphen unterscheiden lassen. Während die oberhalb der Membran wachsenden Hyphen dünn bleiben und ein homogenes Gefüge aufweisen, sind die der Oberfläche eng angeschmiegten kräftig entwickelt. Man kommt sogar infolge dieses „Dimorphismus" für den ersten Augenblick in Versuchung, diese zweite Art von Hyphen einer andern Pilzspezies zuzuschreiben, aber man hat oft genug Gelegenheit, zu beobachten, daß gerade aus diesen Hyphen Konidienträger entspringen, welche die Identifizierung ermöglichen. Diese verschiedene Sonderung innerhalb des Hyphenkomplexes steht übrigens nicht isoliert da. Es ist neuerdings durch *Falck*[104]) bekannt geworden, daß im Bereiche der vegetativen Sphäre der Schimmelpilze durch Ernährungsverhältnisse bedingte Differenzierungen des sonst gleichartigen Myzels in einzelne, funktionell und morphologisch gesonderte Teile oft (speziell bei Mucorineen) zu beobachten sind.[105])

Gelegentlich ist auch bei Botrytis zu konstatieren, daß die Haftorganbildung ausbleibt, daß vielmehr die Hyphenspitze direkt in die Haut eindringt. Vor allem ist dies der Fall, wenn Botrytis die Epidermis von Allium durchbohrt. Schon *de Bary*[106]) hat darauf aufmerksam gemacht, daß die Durchbohrung mit den Spitzen erfolgt, sobald sich die Hyphen in einem relativ nährstoffreichen Substrat befinden. Dies ist vielleicht darauf zurückzuführen, daß durch die kräftigere Ernährung eine intensivere Enzymsekretion bedingt wird. Die unter der erhöhten Fermentwirkung stehende

104) Falck. Die Bedingungen u. die Bedeutung der Zygotenbildung bei Sporidinia grandis. Cohns Beitr. zur Biol. d. Pfl. 1902. Bd. 8. S. 225.

105) Auch Schmidt (1891. l. c. S. 313) sah einen ähnlichen Hyphendimorphismus.

106) de Bary. 1886. l. c. S. 411.

Membran wird schließlich so erweicht, daß schon der mechanische Druck der fortwachsenden Hyphenspitze ausreicht, das gelockerte Zellhautgefüge zu durchbrechen. Diese Spitzeneinbohrung tritt aber nur bei leicht angreifbaren Membranen ein (wie z. B. bei Allium), während widerstandskräftigere Häute nur unter Mitwirkung mehr oder minder scharf ausgebildeter Haftorgane durchbohrt werden. Wir können also die *de Bary*'sche Auffassung dahin erweitern, daß nicht bloß bei guter Vorernährung, sondern auch bei leichter Löslichkeit der Membran resp. bei ungehinderter Diffusion des Enzyms Spitzeneinbohrung vorherrscht. Auch *Hasselbring*[107]) konnte den Nachweis liefern, daß bei den Anthrocnoses in Gegenwart von überflüssigem Nährmaterial der Keimschlauch die Fähigkeit verliert, auf Kontaktreiz zu reagieren, daß also unter solchen Bedingungen die Bildung von Haftorganen verhindert wird.

VI. Mechanische Effekte.

Es ist eine wichtige Eigenschaft der Pflanzen, daß sie beim Auftreffen auf widerstehende Körper in ihrer Wachstumsrichtung zu beharren streben und so gegen Widerstände Druckwirkung und Arbeitsleistung zu vollbringen vermögen.[108]) Als Kraftquelle kommt hierbei bei dünnwandigen Organen die osmotische Energie in Betracht, die normalerweise durch die entsprechende Spannung der Zellhaut äquilibriert wird, die aber beim Auftreffen auf Widerstände infolge der dadurch bedingten partiellen Entspannung der Zellmembran als Druck auf die Widerlage übertragen werden kann.[109]) Die von einer wachsenden Wurzelspitze erzeugte mechanische Energie ist wohl imstande, ein Vordringen der

107) Hasselbring. The Appressoria of the Anthrocnoses. Bot. Gaz. 1906. Bd. 42. S. 138.

108) Vgl. Pfeffer. Druck- und Arbeitsleistung durch wachsende Pflanzen. Abh. d. math.-phys. Kl. d. Königl. Sächs. Gesellsch. d. Wiss. 1893. Bd. 20. S. 418.

109) Vgl. Pfeffer. 1893. l. c. S. 289.

Wurzeln in plastischen Materialien[110]), sowie ein Einwachsen in lebende Gewebe[111]) zu ermöglichen.

Da die Pilzhyphen die Fähigkeit besitzen, sich der Unterlage fest anzulegen, so sind damit die Faktoren realisiert, welche die Äußerungen von mechanischen Außenleistungen ermöglichen. Wieweit Pilzhyphen zu mechanischen Druckwirkungen befähigt sind, diese Frage wurde schon von *Miyoshi*[112]) erörtert. Dieser konnte zeigen, daß Goldblättchen, bei denen eine chemische Wirkung seitens des Pilzes ausgeschlossen ist, von den meisten Schimmelpilzen durchbohrt werden. Um eine annähernde Vorstellung von dem Widerstand zu bekommen, den der vordringende Pilzfaden zu überwältigen hat, benutzte *Miyoshi*[113]) eine Glasnadel, deren Spitze nach dem Modell einer Hyphe abgerundet war, und beobachtete, welche Belastung die Nadel erfahren mußte, um die Versuchsmembran zu durchbrechen.

Es ergaben sich dabei folgende Werte:[114])

Epidermis der inneren Seite der Zwiebelschale von Allium cepa	3,5 Atm.
Oberseite von Tradescantia procumbens . .	4,9 Atm.
Kollodiumhaut	7,4 Atm.

Bei der Prüfung der Widerstandsverhältnisse von den im dritten Abschnitt dieser Arbeit angeführten Membranen ergaben sich so hohe absolute Druckwerte, daß es angebracht erschien, dieser Frage nochmals experimentell näher zu treten. Die Methode war der *Miyoshis*[115]) entsprechend: eine Glas- resp. eine Metallnadel, die durch eine Führung in Gestalt eines Glasringes vertikal gestellt und oben mit einem zur Aufnahme von Gewichten bestimmten Tellerchen versehen war. Die Werte, die bei einer solchen Versuchsreihe resultierten, ebenso die zur Berechnung dienenden Größen, sind aus der nachstehenden Tabelle I ersichtlich.

---

110) Pfeffer. 1893. l. c. S. 323.

111) Peirce. Das Eindringen von Wurzeln in lebendige Gewebe. Bot. Zeitg. 1894. Bd. 52. S. 172.

112) Miyoshi. 1895. l. c. S. 282 ff.

113) Miyoshi. 1895. l. c. S. 283.

114) Miyoshi. 1895. l. c. S. 284.

115) Miyoshi. 1895. l. c. S. 283.

Tabelle I.

Nadel: $r = 0{,}0284$ mm, $r^2\pi = 0{,}0025$ qmm, Gewicht: 0,28 gr					
Nr.	Objekt	Belastung u. Nadelgewicht	Abs. Druck auf 1 qcm in kg	Druck in Atmosphären	Bemerkung
1	Allium	2,18	87,2	84,41	reichliche Durchbohrung
2	Ilex (nat.)	8,28	331,2	320,62	keine Durchbohrung
3	Ilex (präp.*)	1,18	47,2	45,69	* mit K (OH), Äther, Alkohol; Durchbohrung
4	Tradescantia	3,78	151,2	146,37	Durchbohrung unter Ausbildung kräft. Appressorien
5	Kollodium (dick)	3,58	143,2	138,63	keine Durchbohrung
6	Kollodium (dünn)	1,28	51,2	49,56	minimale Durchbohrung; Ausbildung von Haftorganen
7	Kollodium (mit Rizinusöl)	0,98	39,2	37,95	reichliche Durchbohrung
8	Apis (Flügel)	1,88	75,2	72,8	keine Durchbohrung
9	Chrysopa perla (Flügel)	0,4	16	15,49	einzelne Fälle von Durchbohrung

Eine plausible Erklärung für die enormen Unterschiede zwischen den *Miyoshi*'schen und den eben angeführten Resultaten konnte nicht gefunden werden, zumal da die Größenverhältnisse der benutzten Nadeln nicht allzu verschieden waren. Die Resultate — in obiger Tabelle sind sie als Mittelwerte einer großen Anzahl von Versuchen angeführt — schwanken zwischen gewissen Grenzen, die oft ganz erheblich sein können. Sie sind aber wohl erklärbar durch die Beschaffenheit der Membranen. Schon wenn man in Betracht zieht, daß eine natürliche Epidermis eine Membran ist, die von steifen Suturlinien durchzogen wird, so muß je nach der Auflage der Nadelspitze der Druck zwischen Grenzwerten variieren; anderseits wird es auch nie möglich sein, eine künstliche Membran (Kollodium) mit ganz gleichem Querschnitt herzustellen. Schon die geringe Zunahme des

absoluten Druckes um 0,1 gr, eine Größe, die innerhalb des Fehlerbereiches liegt, bedingt eine Steigerung des Atmosphärendruckes um rund 9 %. Auch daraus dürften sich die schwankenden Werte erklären.

Benutzt man zu den Versuchen Nadeln mit größerer aktiver Druckfläche, so fallen die Werte für den aufzuwendenden Druck ganz rapid (vergl. Tabelle II).

Tabelle II.

Objekt: Seidenpapier.

Druckfläche in qmm:	0,0017;	Druck in Atm.:	677,6.
„	0,0095;	„	359,7.
„	3,14;	„	12,3.

Es ist bekannt, daß in bezug auf den Reibungswiderstand die dünnen Nadeln den dickern gegenüber im Nachteil sind, weil die Reibung im einfachen, die treibende Energie dagegen im quadratischen Verhältnis zum Radius steht.[116])

Von *Miyoshi*[117]) ist schon hervorgehoben worden, daß die Versuche mit Nadeln kein genaues Bild von der Druckleistung der Pilzhyphen geben können. Da das Wachstum bei allen sehr schnell wachsenden Pilzfäden, wozu auch Botrytis gehört, auf den äußersten Spitzenteil beschränkt ist[118]), so muß hier die Summierung des Widerstandes mit der zunehmenden Reibungsfläche wegfallen.

Auf einen Punkt sei an dieser Stelle noch aufmerksam gemacht. Setzt man die ganze Versuchsanordnung (Nadel und Membran) konstanten Erschütterungen aus, wie sie durch einen rasch gehenden Klinostaten hervorgerufen werden können, so sind bedeutend geringere Druckleistungen nötig, um die Versuchshaut zu durchbrechen. Die Größen für den absoluten Druck sinken über die Hälfte unter den Wert, der für ein momentanes Durchbohren erforderlich ist. Infolge der Plastizität des Materials rückt unter dem Einfluß des konstant wirkenden Druckes und der in regelmäßigen Intervallen erfolgenden Erschütterungen die Spitze kontinuierlich vor, um nach längerer oder kürzerer Zeit die entgegenstehende Membran zu durchbrechen.

116) Pfeffer. 1893. l. c. S 279.
117) Miyoshi. 1895. l. c. S. 284.
118) Pfeffer. 1904. l. c. S. 6.

Es ist wohl möglich, daß auch in der Natur beim Eindringen des Pilzes in die Epidermis ähnliche Verhältnisse vorliegen. Die Zuwachsbewegung bei den Pilzen ist im allgemeinen keineswegs geradlinig fortschreitend, sondern die Hyphenspitze beschreibt beim Längenzuwachs eine mehr oder minder verwickelte Raumkurve.[119]) Infolge der ungleichen Verteilung des Längenwachstums in der wachsenden Region wird ein Zustand erreicht, der den konstanten Erschütterungen gleichkommt. Außerdem wird durch die Sekretion von Enzymen resp. durch deren Lösungswirkungen eine Erhöhung der plastischen Nachgiebigkeit erreicht.

Es fragt sich nun, wie hoch die mechanischen Maximalleistungen sein können, welche die Pilzhyphe infolge ihres osmotischen Druckes nach außen zu entfalten vermag. Solange die Pilzzelle von außen her keinen Widerstand findet, verbraucht sie die ganze osmotische Energie zur Dehnung der Zellmembran. Nach dem Anschmiegen und Festhaften an der Unterlage wird aber die elastisch gedehnte Wand mehr oder weniger entspannt und so die Möglichkeit gegeben, den innern, osmotischen Druck auf die äußere Widerlage zu übertragen. Vorausgesetzt, daß die Zellmembran völlig entspannt ist, kann der gesamte Innendruck zum äußern Effekt herangezogen werden.

In der Plasmolyse der Hyphen haben wir ein Mittel, das Maß dieses Innendruckes experimentell festzustellen. Allerdings ist der osmotische Druck bei dem jeweiligen Organismus äußerst variabel je nach den äußeren und innern Verhältnissen, sodaß in dieser Hinsicht die Plasmolysenwerte verschieden ausfallen müssen. Es ist durch die Untersuchungen von *Errara*[120]) bekannt, daß Schimmelpilze sich leicht an hochkonzentrierte Lösungen adaptieren können. Als oberste Grenze der Konzentration, die z. B. Botrytis noch vertragen kann, gibt *Eschenhagen*[121]) 51 % Glukose an, was 18,02 % Kalisalpeter entsprechen würde. Durch eigene Versuche konnte festgestellt werden, daß in Lösungen bis

119) Vgl. Fritzsche. Über die Beeinflussung der Zirkumnutation durch verschiedene Faktoren. Diss. Leipzig 1899.

120) Errera. Die große Wachstumsperiode bei den Fruchtträgern von Phycomyces. Bot. Zeitg. 1884. Bd. 42. S. 535.

121) Eschenhagen. Einfluß der Lösungen verschiedener Konzentration auf Schimmelpilze. Diss. Leipzig 1889. Nach diesem Autor vermag Penicillium noch auf solchen konzentrierten Lösungen zu gedeihen, daß der Zellsaft bis zu 45 % KNO_3 isosmotisch wird.

über 10 % Kaliumnitrat Wachstum erfolgte und, was wichtig ist, auch Durchbohrungen eintraten; allerdings nur bei solchen Membranen, die enzymatisch angreifbar sind (Allium, Tradescantia). Die Hyphen bevorzugten dann stets die Querwände und Zwickel, was namentlich schön bei Tradescantia zu beobachten war. Es wurde schon hervorgehoben, daß gerade die genannten Partien aus leicht angreifbaren Hemizellulosen bestehen, sodaß in diesen Fällen die Mitwirkung mechanischer Kräfte nur gering zu sein braucht. Die volle osmotische Energie kann ja auch in Lösungen nie ganz nach außen übertragen werden, weil sie partiell durch das umgebende plasmolytische Medium äquilibriert wird.

Nehmen wir an, daß eine Botrytis-Hyphe bei 15 % KNO_3 Plasmolyse zeigt, wie einmal beobachtet werden konnte, so ergibt dies einen osmotischen Druck von ungefähr $15 \times 3{,}5 = 52{,}5$ Atmosphären[122]), der bei einer völligen Entspannung der Zellhaut disponibel wäre. Und dieser Druck würde ausreichen, Membranen mit geringer Widerstandsfähigkeit auf rein mechanischem Wege zu durchbohren. Aber diese erwähnte Voraussetzung wird nie erfüllt sein, sodaß man bei einer Pilzhyphe mit einer dem osmotischen Druck entsprechenden mechanischen Wirkung nicht rechnen kann. Außerdem sind, wie gezeigt wurde, die Widerstandsverhältnisse der meisten Membranen derartig, daß auch bei voller Entfaltung der innern Energie das Hindernis rein mechanisch nicht überwunden werden kann. Es bedarf vielmehr der Mitwirkung anderer Faktoren, vor allem des Eingreifens chemischer Wirkungen, die durch partielle Lösung der Membranbestandteile die Widerstandsfähigkeit der Membranen herabsetzen.

Bekanntlich hat *Pfeffer*[123]) festgestellt, daß bei manchen wachsenden Wurzeln im Gipsverbande, also beim Wachsen gegen eine Widerlage, eine Turgorsteigerung eintritt, die mit einer Erhöhung der disponibeln osmotischen Energie gleichbedeutend ist. Es war von vornherein nicht ausgeschlossen, daß ähnliche Verhältnisse einer Turgorschwellung bei den fest an der Widerlage haftenden Appressorien obwalten könnten. Es konnte aber nie ein nennenswerter Unterschied in der plasmolysierenden Konzentration bei

122) Vgl. Pfeffer. 1897. l. c. S. 129.
123) Pfeffer. 1893. l. c. S. 297.

Hyphenspitze und Haftorgan gefunden werden. Wohl besteht aber eine solche Differenz bei Spitzenzellen und den älteren, rückwärts liegenden Partien der Hyphen.[124])

VII. Beeinflussung der Enzymwirkung durch verschiedene Faktoren.

Im vorhergehenden Abschnitt wurde der experimentelle Nachweis geliefert, daß die Widerstandsfähigkeit pflanzlicher Membranen relativ recht hohe Werte erreicht, sodaß der Schluß berechtigt war, das Eintreten einer Durchbohrung stets mit der lösenden Wirkung von Enzymen in Verbindung zu bringen. Für die nachstehenden Untersuchungen war folgende Überlegung maßgebend: Ist für das Zustandekommen einer Membrandurchbohrung die Enzymwirkung absolut notwendig, so muß bei Elimination dieses Effektes, die durch irgendwelche Mittel erzielt werden mag, eine Durchbohrung ausbleiben, weil dann infolge der Nichtbeeinflussung der Membran durch chemische Eingriffe für die Durchbrechung lediglich die mechanische Widerstandsfähigkeit in Frage kommt, zu deren Überwindung aber die dem Pilze zur Verfügung stehende Kraftäußerung nicht ausreicht.

Die Versuche wurden hauptsächlich mit Botrytis ausgeführt. Als Durchbohrungsobjekt diente ausschließlich die spaltöffnungsfreie Epidermis der Zwiebelschale von Allium cepa. Bemerkt sei gleich hier, daß die Frage nicht mit absoluter Sicherheit, sondern nur mit großer Wahrscheinlichkeit beantwortet werden konnte.

Durch die Untersuchungen *Schellenbergs*[125]) ist Genaueres darüber bekannt, welche Hemizellulosen überhaupt von Botrytis zur Lösung gebracht werden können. Es war natürlich, daß für die folgenden Versuche nur solches Material benutzt wurde, das sich durch eine rasche Auflösung auszeichnet. Deshalb kam allgemein das Endosperm von

124) Vgl. Reinhardt. Plasmolytische Studien zur Kenntnis des Wachstums der Zellmembran. Festschrift f. Schwendener. 1899. S. 446.
Neuerdings auch Hahmann: Über Wachstumsstörungen bei Schimmelpilzen durch verschiedene Einflüsse. Diss. Leipzig 1913. S. 36.

125) Schellenberg. 1908. l. c. S. 274.

Lupinus hirsutus zur Anwendung. Von diesem Endosperm wurden dünne Schnitte angefertigt, die in gesättigtem Ätherwasser zur Aufbewahrung gelangten. Kontrollversuche bewiesen, daß auch bei mehrtägigem Stehen in genannter Flüssigkeit die Schnitte keinerlei Veränderung zeigten. Die durch die bakterizide Wirkung des Äthers keimfrei gemachten Schnitte wurden dann in einer feuchten Kammer mit dem Sporenmaterial zusammengebracht. Die Abschmelzung der Schichten erfolgte in relativ kurzer Zeit. Selbst bei einer hinreichenden Verdünnung des Enzyms, die dadurch erzielt wurde, daß Pilzspore und Endosperm in einem verhältnismäßig großen Wassertropfen weit voneinander getrennt wurden, ließen sich die einzelnen Lösungsstadien genau verfolgen. Offenbar wird das Enzym in reichlichen Quantitäten produziert, sodaß es rasch auf diffusionellem Wege zu den Schnitten gelangen kann, um hier seine Wirkung geltend zu machen.

1. Einfluß subminimaler Temperaturen.

Es wurde zunächst versucht, den Einfluß niedriger Temperaturen auf die Enzymwirkung zu prüfen. Zu diesem Zwecke kamen die Feuchtkammer-Kulturen im Eisschrank, dessen Temperatur konstant auf $+4^{0}$ C. blieb, zur Aufstellung. Diese niedere Temperatur hatte auf die Keimung der Sporen, abgesehen von einer Verzögerung, keinen nennenswerten Einfluß. Nach *Schneider-Orelli*[126]) vermögen die Sporen von Botrytis selbst noch bei 0^{0} C. Keimschläuche zu treiben.

Das Resultat der Versuche war, daß selbst nach 36 Stunden die Auflösung der Lupinus-Hemizellulose noch nicht in ihren ersten Stadien bemerkbar war. Die Hyphen wuchsen sogar über die Schnitte hinweg, ohne daß an den Berührungsstellen eine Veränderung hätte konstatiert werden können. Bei normalen Temperaturverhältnissen sind schon in den ersten Keimungsstadien Auflösungsprozesse wahrzunehmen, also innerhalb einer Zeit von ca. 12 Stunden.

---

126) Schneider-Orelli. Versuche über die Wachstumsbedingungen u. Verbreitung der Fäulnispilze des Lagerobstes. Zentralblatt f. Bakt. II. Abt. 1912. Bd. 32. S. 167.

Die sich hier anschließende Frage war die, ob bei den in Rede stehenden niedrigen Temperaturen die Fermentsekretion sistiert oder ob nur das Enzym in einem inaktiven Zustand vorhanden ist. Zu diesem Zwecke mußte natürlich die Wirkung des lebenden Myzels durch irgendwelche Mittel ausgeschaltet werden, die jedoch die Fermentkonstitution unverändert lassen müssen. Es geschah dies durch den Zusatz antiseptisch wirkender Substanzen. Am besten eignete sich Toluol, das stets entwicklungshemmend wirkt und unter allen Antisepticis am wenigsten die Eigenart der Enzyme beeinflußt.[127]) Deshalb wurden die bei niederer Temperatur aufbewahrten Hängetropfen-Kulturen mit Toluol versetzt; außerdem wurde dafür gesorgt, daß die einzelnen Kulturen von einer Toluolatmosphäre umgeben waren. Vorsichtshalber blieben die so präparierten Kulturen noch einige Stunden im Eisschrank stehen. Die Hyphen starben innerhalb dieser Zeit ab, erkenntlich an den rasch auftretenden Desorganisationserscheinungen. Wurden nun diese Kulturen in normale Temperatur (25 ° C.) zurückgebracht, so konnte schon nach wenigen Stunden die Lösung der vorher intakten Hemizellulosen beobachtet werden. Aus diesen Versuchen geht mit ziemlicher Sicherheit hervor, daß bei niedrigen Temperaturen die Enzymproduktion wohl besteht, daß aber die Enzymwirkung sistiert erscheint oder daß wenigstens ein Effekt nach außen nicht sichtbar wird. Die große Empfindlichkeit gegen niedere Temperaturen, die sich in einer augenfälligen Abnahme der Aktivität des Enzyms zeigt, ist für Fermente in wässeriger Lösung als wesentliches Charakteristikum bekannt;[128]) ebenso ist eine Tatsache der Erfahrung die Beeinflussung der Reaktionsgeschwindigkeit chemischer Prozesse durch die Temperatur. So bewirkt eine Temperaturerhöhung von 10 ° die Zunahme der Reaktionsgeschwindigkeit um das Doppelte und Dreifache, und umgekehrt bedingt die gleiche Erniedrigung der Temperatur eine Verminderung um denselben Betrag.[129]) Diese Regel gilt nun nicht nur für gewöhnliche chemische Prozesse, sondern auch für Fermentreaktionen. Die oben erwähnten Versuche sprechen dafür, daß bei den benutzten niederen Temperaturen die Reaktionsgeschwindigkeit eine

127) Oppenheimer. Die Fermente. 3. Aufl. 1910. I Teil. S. 65.
128) Oppenheimer. 1910. l. c. S. 53.
129) Oppenheimer. 1910. l. c. S. 180.

solche Verringerung erfährt, daß auch nach relativ langer Zeit ein äußerer Effekt nicht eintritt.

Wenn nun bei einer Membrandurchbohrung die Mitwirkung von Enzymen absolut nötig ist, so muß nach dem Vorstehenden bei Anwendung niederer Temperaturen die Durchbohrung ausbleiben. Versuche bestätigten diesen Schluß. Die Hyphen hatten zwar reichlichere Appressorien als sonst gebildet, aber die Anlage von Infektionsfäden war nicht zu beobachten. Allerdings, einige Durchbohrungsfälle konnten konstatiert werden, die sich indes leicht erklären lassen. Da sich der Temperaturausgleich in den feuchten Kammern ziemlich langsam vollzieht, so ist die Möglichkeit vorhanden, daß einige Sporen sich schon in den ersten Keimungsstadien befanden, bevor noch das umgebende Medium sich auf + 4 ° C. abgekühlt hatte. Die aktive Einwirkung des Enzyms war auf diese Weise nicht ausgeschlossen. Für die Wahrscheinlichkeit dieser Annahme spricht noch die Tatsache, daß gerade bei denjenigen Sporen, die direkt der Membran auflagen oder deren Keimschlauch nur eine ganz geringe Länge zu erreichen hatte, um auf die Membran zu treffen und hier die Fermentwirkung zur Geltung zu bringen, Durchbohrung zu bemerken war (vergl. Fig. 1). Das Eindringen erfolgte hauptsächlichst an den Suturlinien der Epidermis. Es wurde schon früher hervorgehoben, daß gerade an diesen Stellen der Angriff des Pilzes am wenigsten Widerstand findet.

2. Einfluß von Säuren und Alkalien.

Über die Säure- und Alkalienempfindlichkeit der Enzyme ist soviel bekannt, daß Mineralsäuren und Alkalien in starken Konzentrationen die Enzyme durch Vernichtung ihrer chemischen Struktur zerstören;[130]) anderseits ist auch bekannt, daß gerade freie H-Jonen[131]) für die Wirkung fast aller Enzyme unbedingt nötig sind, d. h. daß die Enzyme in schwach sauren Lösungen am besten reagieren. Dagegen erweisen sich für die Mehrzahl der Enzyme freie (OH)-Jonen[132]) schon in sehr minimalen Konzentrationen als schädlich.

130) Oppenheimer. 1910. l. c. S. 58.
131) Oppenheimer. 1910. l. c. S. 58.
132) Oppenheimer. 1910. l. c. S. 59.

Von der Anwendung hoher Konzentrationen mußte bei den Versuchen natürlich Abstand genommen werden, weil sonst ein Pilzwachstum von vornherein ausgeschlossen gewesen wäre. Es konnte nur mit solchen Konzentrationen gearbeitet werden, bei denen eine Entwicklungsmöglichkeit noch vorhanden war. Die Versuche wurden in der Weise ausgeführt, daß die Gelatineunterlage mit Phosphorsäure resp. Natriumkarbonat versetzt wurde, und zwar in solchem Grade, daß bei Lackmus als Indikator eine sofortige, energische Farbänderung eintrat. Der Einfluß dieser Agentien offenbarte sich schon in der erheblich verzögerten Keimungsdauer und auffallend geringen Keimungsintensität; auch die ausgebildeten Hyphen zeigten ein recht dürftiges Aussehen. Es hatte den Anschein, als ob der Überschuß von Säuren von den Vegetationsorganen besser vertragen würde als eine Anreicherung von Alkali. Es ist in dieser Hinsicht durch die Untersuchungen von *Wehmer*[133]) und *Nikitinsky*[134]) klargestellt worden, daß Schimmelpilze noch auf Nährlösungen zu gedeihen vermögen, die einen ansehnlich hohen Prozentsatz an freier Säure aufweisen.

Als Resultat der Versuche ergab sich, daß bei Überschuß von freien Säuren und Alkalien die Durchbohrung stark herabgesetzt wird. Während unter normalen Verhältnissen im mikroskopischen Gesichtsfelde äußerst leicht und zahlreich die Durchbohrungserscheinungen konstatiert werden konnten, bedurfte es in den erwähnten Fällen schon der genauen Durchsuchung der ganzen Membranoberfläche, um einzelne Fälle von Durchbohrung sicher festzustellen.

3. Einfluß von Tannin.

Es ist bekannt, daß Tannin viele Enzyme schädigt. Dieser Einfluß dürfte in erster Linie auf Adsorption und Fällung der Enzyme beruhen.[135]) Die Untersuchungen von *Katz*[136]) haben nun gezeigt, daß ein mäßiger Zusatz von

133) Wehmer. Entstehung und physiol. Bedeutung der Oxalsäure im Stoffwechsel einiger Pilze. Bot. Zeitg. 1891. Bd. 49. S. 233.

134) Nikitinsky. Über die Zersetzung der Huminsäure durch physikalisch-chemische Agentien u. durch Mikroorganismen. Jahrb. f. wiss. Bot. 1902. Bd. 37. S. 365.

135) Oppenheimer. 1910. l. c. S. 65.

136) Katz. Die regulatorische Bildung der Diastase durch Pilze. Jahrb. f. wiss. Bot. 1898. Bd. 31. S. 615.

Tannin zu Pilzkulturen resp. die durch das Tannin bedingte Ausfällung die Enzymproduktion wesentlich steigern kann, eine Tatsache, die mit der Gesetzmäßigkeit im Stoffwechsel harmoniert, nach welcher die durch eine Wegnahme oder Festlegung eines Produktes verursachte Störung des Gleichgewichtszustandes durch die Neubildung des Stoffes aufgehoben wird. Tannin hat dann noch den Vorteil, daß es in mäßigen Konzentrationen ohne irgendwelche Schädigungen von der Pilzvegetation vertragen wird. Die enzymhemmende Wirkung des Tannins ergab sich aus Versuchen, wo Botrytis in einer halbprozentigen Tanninlösung die Hemizellulose von Lupinus hirsutus nicht zu lösen vermochte. Erst nach tagelangem Stehen der Kulturen trat eine Lösung ein, vermutlich nachdem das Tannin zum guten Teil verarbeitet, zersetzt oder gebunden worden war.

Desgleichen unterblieb die Durchbohrung, wenn die Versuchshaut einer tanninhaltigen Unterlage aufgelegt wurde. Eine Gelatineschicht konnte in diesem Falle nicht als Unterlage gewählt werden, weil die chemischen Umsetzungen, die sich durch den Zusatz von Tannin in der Gelatine abspielen, das Tannin in eine für den vorliegenden Zweck unbrauchbare Verbindung überführen. Deshalb wurde die Versuchshaut mit Hilfe eines durchlöcherten Glimmerblättchens einer mit 0,5 % Tannin versetzten, schwachprozentigen Zuckerlösung superponiert. Das Resultat der Versuche wurde schon hervorgehoben: die Durchbohrung blieb in der Regel aus, wenn auch in einigen Fällen ein Durchbruch zu beobachten war. Plausibel erscheint dafür folgende Erklärung. Weil die Hyphen der Membran dicht angeschmiegt wachsen, so ist es sehr wahrscheinlich, daß die in dem Raume zwischen Hyphe und Membran befindliche Tanninmenge nicht ausreicht, die produzierte Enzymmenge vollständig unwirksam zu machen, sondern daß vielmehr infolge der nur partiellen Elimination immer noch genügend Enzym vorhanden ist, das seinen Einfluß auf die Membran geltend machen kann.

Es sei bei dieser Gelegenheit noch auf eine Eigentümlichkeit hingewiesen, die auch bei dem Wachsen der Pilze unter subminimalen Temperaturen beobachtet wurde. Während unter normalen Bedingungen bei der Durchbohrung von Allium-Membranen die Perforation hauptsächlich durch die Hyphenspitzen erfolgte, ohne daß es zur Ausbildung typischer Appressorien gekommen wäre, traten in den vor-

hin skizzierten Fällen reichlich haftorganähnliche Gebilde auf. Eine vergleichende Betrachtung der Figuren 1 und 2 führt diese Erscheinung deutlich vor Augen.

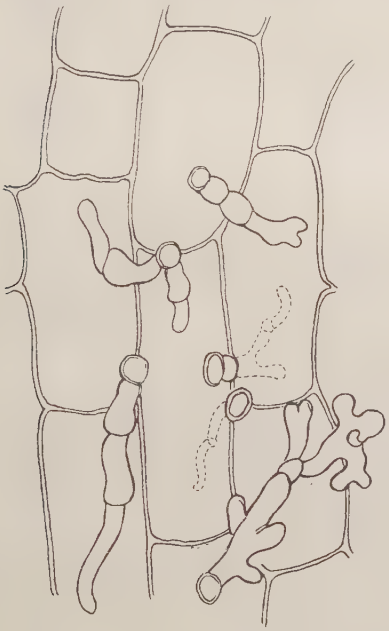

Fig. 1.
bei 4 °C

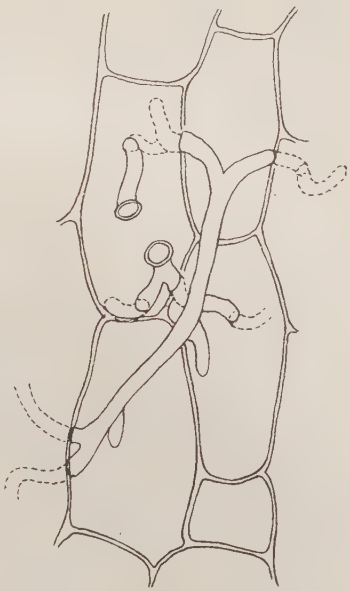

Fig. 2.
bei 25 °C.

4. Einfluß von Pepton.

Die Produktion von Enzymen ist in hohem Maße von Ernährungsbedingungen abhängig. Es ist bekannt, daß Bakterien nur in Gegenwart geeigneter Stoffe die betreffenden Enzyme erzeugen.[137]) Aus *Fermis* Untersuchungen[138]) geht hervor, daß bei Bakterien auf eiweißfreien Nährböden eine völlige Sistierung der Enzymproduktion eintritt. Der-

137) Krabbe. Untersuchungen über das Diastaseferment. Jahrb. f. wiss. Bot. 1890. Bd. 21. S. 520.

138) Fermi. Zentralblatt f. Bakt. 1891. Bd. 10. S. 405.

selbe Autor hat auch für viele Bakterien den Nachweis erbringen können, daß bei Abwesenheit von Pepton keine Diastasebildung stattfindet, eine Beobachtung, die *Katz*[139]) in seinen eingehenden Untersuchungen über Diastaseerzeugung für die Schimmelpilze (Penicillium und Aspergillus) nicht zutreffend fand. Bei beiden erfolgt auch ohne Eiweißzufuhr eine energische Produktion diastatischer Enzyme. Eiweißzusatz (Pepton) beeinflußt nur insofern die Fermenterzeugung, als mit der Steigerung der Wachstumstätigkeit eine erhöhte Diastasebildung parallel geht.

Mit Rücksicht auf die in diesen Befunden dargetanen Regulationserscheinungen konnte vermutet werden, daß durch die Erhöhung des Eiweißgehaltes der Unterlage durch eine Beigabe von Pepton (0,5 %) ein verstärkter Durchbohrungseffekt bedingt wird, indem eben mit der Vegetation der Hyphen unter viel günstigeren Bedingungen eine reichlichere Enzymproduktion Hand in Hand geht. Diese Vermutung konnte aber in keinem Falle bestätigt werden. So wurden Membranen, bei denen, normale Zuckergelatine als Unterlage oder Zuckerlösung als umgebende Flüssigkeit vorausgesetzt, keine Durchbohrung eintrat, auch bei entsprechendem Peptonzusatz durchaus nicht perforiert. Naturgemäß konnten hier nur solche Membranen Verwendung finden, bei denen die Durchbohrung nicht rein mechanisch erfolgt, weil in diesem Falle die Durchbohrungsmöglichkeit nicht von der vorhandenen Enzymmenge, sondern von anderen Faktoren, so von der durch das osmotische System bedingten maximalen Druckleistung abhängig sein würde. Nur an solchen Häuten, die partiell durch die lösende Wirkung von Enzymen durchbohrt werden, konnte die Frage entschieden werden; wie bereits erwähnt, ohne Erfolg. Dies mag daran liegen, daß auch die in erhöhtem Maße produzierte Enzymmenge nicht imstande ist, die außerordentlich widerstandsfähige Epidermis so aufzuschließen, daß eine Durchbohrung durch die Lockerung des Zellgefüges ermöglicht wird. Die Kutikularisierung und die fast vollständige Impermeabilität der starken Kutikula hindern ein diffusionelles Vordringen des Enzyms. In diesen Fällen schließen also die physikalischen Eigenschaften der Membran ohne Rücksicht auf das wirkungsfähige Enzymquantum die Durchbohrung aus.

139) Katz. 1898. l. c. S. 609.

VIII. Schluß.

Auf Grund der mitgeteilten Versuche können wir die Membranen, gleichgültig, welchen Ursprung sie haben, ob pflanzlich, tierisch oder künstlich, in zwei Gruppen einteilen: einmal in solche, bei denen die Durchbohrung unter Mitwirkung von Enzymen erfolgt, und dann in solche, die nur nach Maßgabe ihres mechanischen Widerstandes durchbohrt werden. Stellt in diesem letzteren Falle die Membran keine allzu hohen Ansprüche an den der Pilzhyphe disponibeln Druck, so gelingt es dem Pilzfaden, nach der Unterlage durchzubrechen. Ist anderseits bei einer enzymatisch beeinflußbaren Membran infolge ihrer physikalischen Eigenschaften ein diffusionelles Vordringen des Enzyms unmöglich gemacht, so nimmt die Membran den Charakter einer indifferenten Haut an, bei der dann die Durchbohrung im Hinblick auf den Widerstand zu erfolgen hat, der meist jedoch zu relativ recht hohen Werten ansteigt. Sobald es aber bei solchen Membranen gelingt, durch Einwirkung geeigneter Agentien die Diffusion des Enzyms zu ermöglichen resp. zu beschleunigen, so erfolgt auch hier Durchbohrung.

Für die Durchbohrung ist neben nicht zu unterschätzenden mechanischen Kräften vor allem eine chemische Wirkung auf die Membran nötig. Wird die Wirksamkeit der Enzyme durch irgendwelche Faktoren gehemmt (Temperatur und chemische Einflüsse), so bleibt die Durchbohrung aus, oder es tritt wenigstens eine evidente Abnahme der Durchbohrungsfähigkeit bei den Membranen ein, wo unter normalen Bedingungen die Durchbohrung glatt vonstatten ging. Hieraus kann unmittelbar der Schluß auf die Notwendigkeit enzymatischer Mitwirkung bei Durchbohrungserscheinungen gezogen werden.

In genügend hoch konzentrierten Lösungen, deren plasmolysierende Wirkung den osmotischen Druck partiell äquilibriert, wird die Durchbohrung stark vermindert; sie beschränkt sich auf solche Stellen, die dem chemischen Angriff am wenigsten Widerstand leisten.

Für das Zustandekommen einer Durchbohrung ist der Chemotropismus nicht als primärer Richtungsreiz anzusprechen. Die Durchbohrung erfolgt unbekümmert um ein bestehendes Konzentrationsgefälle; selbst typisch giftige Substanzen vermögen eine Durchbohrung nicht auszuschließen.

Inniger Kontakt mit der Membranoberfläche, zum Teil unterstützt durch die Fähigkeit, auf haptotropische Reize zu reagieren, und die Sekretion hemizelluloselösender Enzyme sind die ersten Faktoren, die die Durchbohrung in die Wege leiten.

Die Durchbohrung erfolgt entweder unter Ausbildung von Appressorien, indem Ausstülpungen aus diesen Organen — Infektionsfäden — die eigentliche Durchbrechung vermitteln, oder es tritt Spitzeneinbohrung ein, die anscheinend dann vorherrscht, wenn die Enzyme rasch und sicher auf die Membran wirken können. Bei Penicillium und Aspergillus fehlt die Fähigkeit, typische Haftorgane auszubilden; hier übernehmen die Hyphen selbst die Aufgabe, durch inniges Anschmiegen an die Membran eine für die mechanische Durchbohrung nötige Widerlage herzustellen.

Die vorliegenden Untersuchungen wurden im Botanischen Institut der Universität Leipzig ausgeführt. Es sei mir hier gestattet, Herrn Geheimen Rat Professor *Dr. Pfeffer* für die mannigfache Anregung und wohlwollende Unterstützung, die er dieser Arbeit zuteil werden ließ, meinen ergebensten Dank auszusprechen. In gleicher Weise bin ich Herrn Privatdozenten *Dr. Buder* und vor allem Herrn *Dr. Fritz Müller* zu großem Dank verpflichtet.

Vita.

Ich, Friedrich Otto Dorn, ev.-luth. Konfession, wurde am 2. September 1888 zu Werdau i. S. geboren. Den Elementarunterricht erhielt ich in der mittleren Bürgerschule zu Crimmitschau i. S. Von Ostern 1899 an besuchte ich die städtische Realschule desselben Ortes, wo ich Ostern 1905 die Einjährig-Freiwilligenprüfung bestand. Ostern des gleichen Jahres trat ich in die Obersekunda des Herzoglichen Ernst-Realgymnasiums zu Altenburg ein. Nach abgelegter Reifeprüfung (Ostern 1908) studierte ich an den Universitäten Jena und Leipzig Naturwissenschaften. Anfang Mai 1913 bestand ich die Prüfung für das Lehramt an höheren Schulen. Von August bis Ende Dezember 1913 leistete ich das Seminarhalbjahr am Königl. Realgymnasium zu Döbeln ab und wurde vom 1. Januar 1914 an vom Königl. Kultusministerium als Probelehrer dem Realgymnasium mit Realschule zu Meißen zugewiesen.

Die für mein Fachstudium wichtigen Vorlesungen und praktischen Übungen belegte ich bei den Herren Dozenten: *Detmer, Haußner, Plate, Stahl, Winkelmann, Ziegler* (Jena) und *Chun, Miehe, Pfeffer, Rohn, Simroth, Steche, Wiener, Woltereck* (Leipzig).